

EXPERIMENTELLE CORTICOSTEROIDINDUZIERTE MYOPATHIE

**Quantitative myometrische Untersuchungen am Skelettmuskel
der Maus unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens
der beiden histochemisch differenzierbaren Fasertypen**

Uta Wassermann

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

EXPERIMENTELLE CORTICOSTEROIDINDUZIERTE MYOPATHIE

Quantitative myometrische Untersuchungen am Skelettmuskel
der Maus unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens
der beiden histochemisch differenzierbaren Fasertypen.



Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Uta Wassermann
aus München

München 1974



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H. Holzgreve

Mitberichterstatter: Professor Dr. E. Buchborn

Dekan: Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.12.1974

M E I N E N E L T E R N !

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	5
II.	CHEMIE UND PHARMAKOLOGIE DER VERWENDETEN CORTICOSTEROIDE	6
III.	LITERATURÜBERSICHT ÜBER DIE SOGENANNT E EXOGENE CORTICOSTEROIDMYOPATHIE	8
	1. Exogene Corticosteroidmyopathie des Menschen	
	2. Glucocorticoidinduzierte Myopathien im Tier- versuch	
IV.	PROBLEMSTELLUNG	14
V.	METHODIK	15
VI.	ERGEBNISSE	18
	1. Histochemische Differenzierung der verschiede- nen Fasertypen im Skelettmuskel der Maus	
	2. Myometrische Befunde des normalen M. quad. fem. der Maus, gewonnen aus der Kontroll- reihe	
	3. Makroskopische Veränderungen und Gewichts- verlauf	
	4. Versuchsreihen mit hoher Steroiddosierung	
	5. Versuchsreihen mit mittlerer Dosierung	
	6. Versuchsreihen mit niederer Dosierung	
VII.	DISKUSSION	49
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	55
IX.	LITERATURVERZEICHNIS	56

I. EINLEITUNG

Die Myopathie als ein Symptom des nach ihm benannten Krankheitsbildes wird 1932 in der Originalarbeit von CUSHING (9) beschrieben.

Weitere Veröffentlichungen, die seiner Publikation folgten, unterstützten und erweiterten diese Beobachtung. Es sollte sich herausstellen, daß jede gesteigerte Cortisolsekretion myopathische Prozesse verursachen kann, d.h. eine Myopathie stellt sich ein, gleichgültig ob der Hypercortizismus durch die ACTH-artige Wirkung von Neoplasmen verschiedener Lokalisation oder durch hypophysäre bzw. adrenale Tumore hervorgerufen wird. JERUSALEM und FREUD-MÖLBERT (38) publizierten 1969 elektronenmikroskopische Biopsiebefunde einer Myopathie bei Hypercortizismus, bedingt durch ein ACTH-produzierendes Leberkarzinom. Unter den malignen, nicht adrenalen oder hypophysären Tumoren mit derartiger Aktivität ist das kleinzellige Bronchialkarzinom das häufigste (38).

Mit der Einführung synthetischer Steroide in die Therapie (1938) trat zu dem endogenen Hypercortizismus das exogen bedingte Cushingsyndrom hinzu. Daß auch hier wiederum myopathische Veränderungen auftreten, geht aus zahlreichen Veröffentlichungen hervor (vgl. Kapitel III/1).

Auf experimentell im Tierversuch hervorgerufene Steroidmyopathien machten KENDALL (42) und GERMUTH et al. (28) erstmals 1951 aufmerksam. Zahlreiche Versuche folgten (vgl. Kapitel III/2).

An letzteren knüpft die vorliegende Arbeit an. Sie beinhaltet myometrische Untersuchungen zum Verhalten der histochemisch differenzierbaren Fasertypen im Rahmen einer experimentell durch Hydrocortison, Triamcinolon und Dexamethason induzierten Myopathie bei Mäusen.

II. CHEMIE UND PHARMAKOLOGIE der verwendeten Glucocorticoide

Die Glucocorticoide, die sich zusammen mit den Mineralcorticoiden als Corticosteroide aus der Nebennierenrinde isolieren lassen, sind Derivate des delta 4-Pregnen:

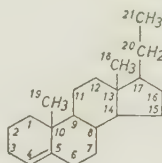


Abb. 1 Strukturformel von Pregnen

Allen Glucocorticoiden gemein ist eine Ketogruppe in C3- und C20-Stellung. Die im Versuch verwendeten Glucocorticoide sind Modifikationen der Grundstruktur. Beim Hydrocortison ist der Wasserstoff in C11, C17 und C21 durch Hydroxylgruppen substituiert. Weitere Keto- und Hydroxylgruppen (in Ring A, in C11, C17 und C21) sowie ein Fluorion charakterisieren Triamcinolon – das 9 alpha-Fluor-16 alpha-hydroxyprednisolon. Dexamethason weist eine Methylgruppe in 16 alpha-Stellung auf und stellt somit das 9 alpha-Fluor-16 alpha-methylprednisolon dar (40,41) (s. Abb. 2).

Entsprechend ihrer pharmakodynamischen Wirkung werden Glucocorticoide gegen verschiedene allergische und rheumatische Erkrankungen, sowie andere im mesenchymalen Gewebe ablaufende Prozesse eingesetzt (7,14,15,55,60).

Zudem kann man beim Vorliegen einer Nebennierenrindeninsuffizienz (Morbus Addison) mit der Zufuhr von Hydrocortison eine echte Substitutionstherapie betreiben.

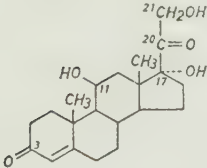
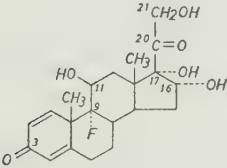
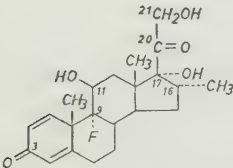
Bei gleicher antiphlogistischer Wirkung bestehen zwischen den für die vorliegende Arbeit angewandten Steroiden folgende Äquivalenzen: Triamcinolon ist 5mal, Dexamethason ist 25mal so wirksam wie Hydrocortison.

Hydrocortison hat zudem eine geringe mineralocorticoide Wirkung, während beim Dexamethason diese durch die Einführung einer Methylgruppe in 16 alpha-Stellung fast völlig

unterdrückt wird. Gleiches gilt auch für Triamcinolon: durch die Substitution einer Hydroxylgruppe in 16 alpha-Position wird der mineralcorticoide Charakter aufgehoben.

Neben ihren für die Therapie wichtigen antiphlogistischen, antiallergischen und antirheumatischen Eigenschaften (deren Mechanismen im einzelnen noch nicht geklärt sind - diskutiert wird die Hemmung der Biosynthese saurer Mucopolysaccharide(46)) - wirken sich Glucocorticoidgaben ferner auf den Kohlenhydrat-, Fett- und Eiweißstoffwechsel, sowie auf das lymphatische Gewebe aus. Folge eines derart umfassenden pharmakodynamischen Spektrums ist die große therapeutische Anwendungsbreite.

Bei der therapeutischen Ausnutzung der Glucocorticoid-eigenschaften stellt man unter vielen anderen unerwünschten Wirkungen immer wieder morphologisch erfaßbare Veränderungen am Skelettmuskel fest (1,7,14,34,35,39,43,45,60, 61,73).

Strukturformel	Trivialname	Handelsname
	Hydrocortison	Scheroson
	Triamcinolon	Delphicort
	Dexamethason	Fortecortin

III. LITERATURÜBERSICHT ÜBER IATROGENE UND IM TIEREXPERIMENT ERZEUGTE GLUCOCORTICOIDBEDINGTE MYOPATHIEN

1. Exogene Corticosteroidmyopathie des Menschen unter besonderer Berücksichtigung von Hydrocortison, Triamcinolon und Dexamethason.

Zahlreiche Veröffentlichungen (1,3,14,26,31,32,39,57,60,75) über die Anwendung von Hydrocortison, Triamcinolon und Dexamethason in der Therapie verweisen konstant auf ein "beunruhigendes Syndrom" (46): eine, insbesondere an der proximalen Beinmuskulatur auftretende Muskelschwäche, aufgrund der die Patienten häufig zu Boden stürzen, unfähig sind, Treppen zu steigen oder sich ohne fremde Hilfe im Bett aufzurichten (14,75).

WILLIAMS (73) erhärtete 1959 durch EMG- und Biopsiebefunde die Beobachtungen von DUBOIS (14) und FREYBERG et al. (26), daß bei einer Behandlung mit Triamcinolon - hier bei Lupus erythematoses und rheumatoider Arthritis - nach einer Latenzzeit u.a. eine Muskelschwäche eintritt, eine Feststellung, die auch ROBINSON und ROBINSON (60) anhand ihres Krankenguts von rheumatoider Arthritis unter Triamcinolonbehandlung trafen.

WILLIAMS (75) stellte bioptisch bei Patienten mit Steroidmyopathie unter Triamcinolontherapie eine Atrophie der Fasern, sowie teilweise auftretende Nekrosen fest. Makroskopisch erschienen die Muskeln blasser als normal. Mikroskopisch fanden sich gelegentlich vakuoläre Degenerationen der Fasern, seltener auch Fasernekrosen mit sekundärer zellulärer Abraumreaktion.

DUBOIS (14) registrierte von 29 Patienten mit Lupus erythematoses 18 mit einem kontinuierlichen Gewichtsverlust und einer gleichzeitig auftretenden Muskelschwäche, die in 6 Fällen besonders stark ausgeprägt war; die Streckmuskulatur der Beine und gelegentlich die Rückenmuskulatur erschienen am meisten beeinträchtigt.

Eine Myopathie in der Beinmuskulatur einer mit 9 alpha-Fluorcortison behandelten Patientin wurde von MACLEAN und SCHURR (45) beobachtet.

Die Veröffentlichungen von DUBOIS (14), FREYBERG (26), WILLIAMS (75) und MACLEAN und SCHURR (49) beinhalten Myopathien, die als Folgeerscheinung einer Triamcinolonmedikation auftraten. Noch ist es ungeklärt, ob durch die Substitution in 9 alpha-Position diesen Steroiden (vgl. Triamcinolon: 9 alpha-Fluor-16 alpha-hydroxyprednisolon und Dexamethason: 9 alpha-Fluor-16 alpha-methylprednisolon) allgemein eine stärkere und wenn wie starke myopathische Wirkung zugeschrieben werden kann. Wie zunächst vielfach diskutiert wurde (3,73), ausschließlich die durch Substitution in C9 alpha-Stellung veränderten Steroide für die beobachteten Myopathien verantwortlich zu machen, hält BARBHAIYA (3) nicht für vertretbar - und verweist auf PERKOFF (57), der den Fall einer cortisoninduzierten Myopathie 1959 veröffentlichte.

Insgesamt 71 in der Literatur beschriebene Fälle, bei denen infolge einer Glucocorticoidbehandlung Myopathien verzeichnet werden konnten, geben KAFSER und KOCHER (39) 1970 an.

Auf eine Myopathie als Folge einer Dexamethasonbehandlung macht GOLDING (31) aufmerksam.

2. Glucocorticoidinduzierte Myopathien im Tierversuch

unter besonderer Berücksichtigung der hydrocortison-, triamcinolon- und dexamethasoninduzierten Myopathien.

KENDALL (42) und GERMUTH et al. (28) machten in den Jahren 1945 bzw. 1951 erstmals auf experimentell im Tierversuch hervorgerufene Myopathien mit Corticotropin und Cortison aufmerksam.

In einer Versuchsreihe mit 102 Kaninchen untersuchte ELLIS (16,17,18) 1956 die Wirkung von 10 mg/kg/die Cortisonacetat über 25 Tage und konnte damit präzisere Angaben über die festgestellten Muskelveränderungen veröffentlichen. Schon 21 Tage nach erfolgter erster Injektion beobachtete ELLIS ausgedehnte Fasernekrosen an den exzidierten Muskeln, die sich aber - setzte er bei einigen Tieren das Medikament ab - vollständig zurückbildeten. ELLIS hielt es für unwahrscheinlich, daß derartige Skelettmuskelveränderungen nur Folge der - wenn auch abgeschwächten - mineralcorticoiden Wirkung

des Cortisonacetats und somit Folge des generell (46,68) auftretenden Kaliummangels bei Cortison- bzw. bei Cortisonacetatgabe sind und zeigte mit einem weiteren Versuch, daß bei Tieren, denen Cortisonacetat und Kalium gegeben wurden, die gleichen morphologischen Veränderungen auftraten.

Zu dem gleichen Ergebnis wie ELLIS kamen GLASER und STARK (29) nach Untersuchungen an 14 Kaninchen, denen in gleicher Dosierung ebenfalls Cortisonacetat über 40 Tage verabreicht wurde.

D'AGOSTINO (11) experimentierte unter analogen Bedingungen 14 Tage mit 8 Kaninchen und kam bei der Auswertung der Diaphragmamuskulatur zu einer weiteren Feststellung: unter dem Einfluß von Cortisonacetat wurden besonders die Typ-I-Fasern geschädigt.

Eine ausgeprägtere und früh einsetzende Schädigung der Typ-II-Fasern wird dagegen von WHITE (74) und VIGNOS (71) unter Triamcinolon an Ratten, bzw. Kaninchen und von SERRATRICE (62) und WALSH (72) sowohl mit Cortison als auch Triamcinolon beschrieben.

MITTELBACH und PONGRATZ (52) publizierten eine Typ-II-Faserdegeneration am Skelettmuskel der Maus unter Prednisolonacetat.

Zu dem gleichen Ergebnis kamen STERN (65) mit Cortisonacetat und SMITH (64) bei der Anwendung von Triamcinolon - wohingegen AFIFI (2) die Bevorzugung einer Fasergruppe in seinem Versuch mit Cortisonacetat nicht feststellen konnte. Seine Arbeit beinhaltet insbesondere den chronologischen Ablauf der cortisonacetatbedingten Myopathie und die Beobachtung der Erholungsphase der geschädigten Muskulatur im Anschluß an das Absetzen des Glucocorticoids.

Wie WHITE (74) und SERRATRICE (62) stellte AFIFI bereits nach Stunden erste Anomalien fest - und gleich SERRATRICE unterschied AFIFI zwischen den Initialveränderungen und dem späteren morphologischen Bild der Steroidmyopathie. Die initiale Phase war durch eine Vermehrung PAS-positiver Substanzen innerhalb der Fasern charakterisiert, während Fasernekrosen, sowie zelluläre Abräumreaktionen die in seinem Versuch nach vier Tagen einsetzende zweite Phase kennzeichneten.

VIGNOS (71) und WHITE (74), die beide ihre Experimente mit Triamcinolon durchführten, wandten in zeitlich parallel laufenden Versuchsreihen verschiedene Steroiddosen an. VIGNOS kam hierbei zu dem Ergebnis, daß die frühesten Veränderungen, die er aufgrund histochemischer Methoden erfassen konnte, an den Muskeln der Tiere auftraten, denen 1 mg/kg/die Triamcinolon injiziert worden war; VIGNOS hatte das Intervall zwischen 0,5 mg und 2,0 mg Triamcinolon untersucht.

WHITE (74) beobachtete bei einer einmaligen Gabe von 20 mg/kg Triamcinolon früheste Veränderungen nach bereits zwei Stunden - während Veränderungen bei ebenfalls einmaliger Injektion von 0,2 mg/kg Triamcinolon erst nach 12 Stunden einsetzten.

Mit verschiedenen Glucocorticoiden in Äquivalenzdosen zu 100 mg Cortisol pro Tag arbeiteten FALUDI, MILLS und CHAYES (23), sowie TICE und ENGEL (69,70). Während TICE und ENGEL sich auf Cortisonacetat (10 mg/kg/die) und Triamcinolon (2 mg/kg/die) beschränkten und hierbei ausgeprägtere sowie schneller manifest werdende Fasernekrosen bei den mit Triamcinolon behandelten Tieren feststellten, konnte FALUDI, MILLS und CHAYES eine allgemein auftretende deutliche Verkleinerung der Fasergröße und ebenfalls große Unterschiede in der spezifischen Wirkung bei der Anwendung von Cortisol, Triamcinolon, Prednisolon, Methylprednisolon und Dexamethason am Hundemuskel feststellen.

Am Mäusemuskel untersuchten FALUDI, MILLS und CHAYES (24) die Wirkung von Hydrocortison, Prednisolon, Methylprednisolon, Triamcinolon, Dexamethason und Betamethason.

Folgende Tabelle gibt eine kurze Übersicht über die oben aufgeführten Tierversuche.

Jahr	Autor	Tier	Steroid	Dosis mg/kg/die	unters. Muskulatur
1945	KENDALL (42)		Triamcinolon		
1951	GERMUTH (28)	Kan.	ACTH	10 mg/die	Skeletmuskul.
1952	KERPPOLA (44)	Kan.	Cortison		
1956	ELLIS (16)	Kan.	Cortisonacetat	10	Oberschenkelmus- kulatur, Vorder- beinmuskulatur, Diaphragma u.a.
1957	LEONARD (47)	Kan.	Cortison		
1958	GLASER (29)	Kan.	Cortisonacetat	10	paravertebrale Muskulatur
1964	SMITH (64)	Kan.	Cortisonacetat Triamcinolon	20 10 6	M. quadr. fem., M. gluteus max., M. erector spinae, distale Muskeln
1964	FALUDI (23)	Hund	Cortisol Prednisolon CH ₂ -Prednisolon Dexamethason Triamcinolon	100 25 20 4 20	M. quadr. fem., Mm. glutaee
1966	FALUDI (24)	Maus	Hydrocortison Prednisolon CH ₃ -Prednisolon Triamcinolon Dexamethason Paramethason Betamethason	10 5 2,5 2,5 1,25 0,61 2 1 0,5 2 1 0,5 0,4 0,2 0,1 1 0,5 0,25 1 0,5 0,25	M. quadr. fem., M. pectoralis, Herzmuskulatur
1966	D'AGOSTINO (11)	Kan.	Cortisonacetat	10	Diaphragma
1966	D'AGOSTINO (12)	Ratte	9 alpha-Fluor- cortisol	0,1	Myocard

Jahr	Autor	Tier	Steroid	Dosis mg/kg/die	unters. Muskulatur
1967	MITTELBACH u. PONGRATZ (52)	Maus	Prednisolon- acetat	0,24	M. gastrocnemius, M. rectus fem.
1967	TICE und ENGEL (70)	Ratte	Cortisonacetat Triamcinolon	10 2	M. soleus, M. gastrocnemius
1969	AFIFI (2)	Kan.	Cortisonacetat	10	M. soleus, M. sar- torius, M. quadri- ceps femoris
1969	GOLDBERG (30)	Ratte	Cortisonacetat	10	M. gastrocnemius, M. tib. ant., Mm. plantares
1970	PETER (58)	Ratte	Triamcinolon	5	Hinterbeinmuskul.
1970	SERRATRICE (62)	Kan.	Cortison	10 mg/die	Diaphragma, Verte- bralmuskulatur
1970	VIGNOS (71)	Kan.	Triamcinolon	0,5-2,0	M. triceps surae, M. vastus lat., Mm. glutei
1970	WHITE (74)	Ratte	Triamcinolon	20 0,2	M. vastus lat. u. med., M. glut. med.
1971	WALSH (72)	Ratte	Hydrocortison- acetat Triamcinolon	20-25 10 1-5	M. gastrocnemius M. soleus
1972	GRUENER (33)	Maus	Dexamethason	5,5	(Potentialbest.)
1972	STERN (65)	Ratte	Cortisonacetat	50	M. soleus, M. ext. digit. long.

Tabelle 1: Übersicht über bisherige tierexperimentelle Untersuchungen zur corticoidinduzierten Myopathie

IV. PROBLEMSTELLUNG

Aus dem bisher Dargestellten ergibt sich eindeutig, daß Corticosteroide vor allen Dingen in hohen Dosen zur sogenannten Corticosteroidmyopathie Anlaß geben können.

Diese wiederum scheint unter bestimmten fluorsubstituierten Steroiden besonders stark und möglicherweise schneller als vergleichsweise mit anderen Derivaten der Stoffgruppe manifest zu werden und vorwiegend die proximalen Muskeln der unteren Extremitäten zu betreffen.

Morphologisch zeichnet sie sich durch eine vorwiegende Schädigung der sogenannten Typ-II-Fasern aus.

An diesem Punkt knüpft die Problemstellung vorliegender Arbeit an.

Sie betrifft folgende, bisher noch nicht gelösten Fragen:

1. Welche Dosen von Corticosteroiden führen zur Typ-II-Faser-Atrophie?
2. Zu welchem Zeitpunkt wird eine Typ-II-Faser-Atrophie myometrisch erstmals faßbar?
3. Besteht bezüglich des Auftretens der Typ-II-Faser-Atrophie ein Unterschied zwischen halogenierten und nicht halogenierten Steroiden?
4. Wie verhält sich die Typ-I-Faser im Vergleich zur Typ-II-Faser?

V. METHODIK +)

Der Versuch wurde mit 140 männlichen Albinomäusen (Durchschnittsgewicht 33 ± 3 g) vom Stamm MNRI der Firma WIGA durchgeführt.

Entsprechend der Anwendung von Hydrocortison, Triamcinolon und Dexamethason in jeweils drei verschiedenen Dosen, ergaben sich neun Versuchsgruppen - zusätzlich lief eine Kontrollreihe mit unbehandelten Tieren mit. In Anbetracht der unterschiedlichen Wirkung der verwendeten Steroide (s. S. 6) wurden aufeinander abgestimmt eine als hohe Dosis (äquivalent 50 mg Hydrocortison/kg/die), eine als mittlere Dosis (äquivalent 5 mg Hydrocortison/kg/die) und eine als niedere Dosis (äquivalent 1 mg Hydrocortison/kg/die) bezeichnete Menge, in physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, den Versuchstieren das jeweilige Präparat s.c. (unter das Rückenfell) gespritzt.

Die Gruppennummerierung wurde wie folgt vorgenommen:

Steroide	Dosen		
	hohe	mittlere	niedere
Hydrocortison	I	IV	VII
Triamcinolon	II	V	VIII
Dexamethason	III	VI	IX

Die Kontrollreihe war Gruppe X.

Nachdem Depotpräparate verabreicht wurden, erfolgten die Injektionen nur dreimal in der Woche. Die Berechnungen für die einzelnen Dosen ergaben sich aufgrund unten aufgeführter Formel:

$$\text{Dosis pro Injektion} = \frac{D \cdot 7 \cdot G}{3 \cdot 1000}$$

Wobei D /mg/kg/die/ für die Dosis steht.

G /g/ entspricht dem Durchschnittsgewicht der Mäuse in den einzelnen Versuchsreihen.

Für die drei Versuchsreihen mit Hydrocortison nahm D die folgenden Werte an:

$$D_{H1} = 50$$

$$D_{H2} = 5$$

$$D_{H3} = 1$$

Für den Triamcinolonversuch war einzusetzen:

$$D_{T1} = 10$$

$$D_{T2} = 1$$

$$D_{T3} = 0,2$$

+) Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Friedrich-Baur-Stiftung, München durchgeführt.

Bei der Untersuchung von Dexamethason galt:

$$D_{D1} = 2$$

$$D_{D2} = 0,2$$

$$D_{D3} = 0,04$$

Gewichtsänderungen während des Versuchsverlaufs wurden durch erneute Berechnungen berücksichtigt. Die Tiere wurden wöchentlich einmal gewogen.

Die Tiere der Reihen mit den hohen Dosen wurden am 1., 2., 3., 4., 7., 10. und 14. Tag nach Versuchsbeginn getötet.

Bei den Reihen mit den mittleren Dosen wurde der Versuch acht Wochen durchgeführt - im Fall von Triamcinolon lief der Versuch noch sieben Monate weiter; die Tiere wurden nach dem 7., 14. und 21. Tag und ab der 4. Woche in Abständen von 2, bzw. 4 und 6 Wochen getötet.

Der Versuch der Reihe mit niederen Dosen dauerte ebenfalls acht Wochen - für Triamcinolon wurde auch bei diesen Dosen der Versuch bis zum neunten Monat fortgeführt. Getötet wurden die Tiere am 7., 14. und 28. Tag, nach 6 und 8 Wochen - jeweils nach Versuchsbeginn berechnet - und danach alle 4 bis 6 Wochen.

In den ersten Tagen nach Versuchsbeginn wurde jeweils nur eine Maus getötet - später zwei Tiere. Eine Ausnahme bildeten die Reihen mit hohen Dosen: hier wurden, da mit Veränderungen früher zu rechnen war, von Anfang an zwei Tiere getötet.

Aus der Gruppe der Kontrolltiere wurde mit Beginn jeder neuen Versuchswoche ein Tier getötet.

Für die histologische und histochemische Untersuchung wurden den Tieren folgende Muskeln entnommen:

M. triceps	des rechten Hinterbeines
M. quadriceps	des rechten Hinterbeines
M. triceps	des linken Hinterbeines
M. quadriceps	des linken Hinterbeines
M. biceps	des rechten Vorderbeines
M. biceps	des linken Vorderbeines

Bei der Entnahme wurde besonders darauf geachtet, daß weder durch Zug noch durch Druck mit der Pinzette der Muskel beschädigt wurde.

Die für die histologische Weiterverarbeitung bestimmten Muskeln wurden nach einer 24stündigen Fixierung in gepuffertem Formalin über 70 %igen Äthanol (12 Stunden bei 37°C) und Aceton (3 Stunden) nach der Methode von BOELLAARD und V. HIRSCH (37), modifiziert nach ERBSLÖH (22), in einem Gemisch von

75 mg Benzoylperoxid
4,5 g Polyglykol 1500
3,8 ml Methacrylsäuremethylester und
1 ml Phthalsäuredibutylester eingebettet.

An 7 µm dicken Schnitten der eingebetteten Muskeln wurden als Routinefärbungen die van Gieson-, die modifizierte Trichrom- und die HE-Färbung durchgeführt.

Für die histochemische Untersuchung wurden die Muskeln der zweiten Extremität sofort nach der Entnahme in flüssigen Stickstoff (-196°C) eingetaucht und so gefroren in eine Polyäthylentüte eingebracht (um eine Austrocknung zu vermeiden) und im Gefrierschrank bei -20°C aufbewahrt. An den im Kryostaten angefertigten Schnitten von $13\text{ }\mu\text{m}$ Dicke wurden drei enzymhistochemische Reaktionen dargestellt:

1. Succinatdehydrogenase (SDH) -Nachweis nach NACHLAS (54) mit TNBT als Indikator. Die Inkubationszeit betrug 60 Minuten bei 37°C .
2. Glucose-Phosphorylase-Reaktion (GPh) nach TAKEUCHI (66) mit 90 Minuten Inkubationszeit bei 37°C .
3. Adenosintriphosphatase-Reaktion (ATPase) nach PADYKULA und HERMAN (56) (mit der Kalzium-Kobalt-Methode) bei einer Inkubationszeit von 40 Minuten bei 37°C . Um eine sichere Zuordnung der sowohl in der SDH-Reaktion als auch in der GPh-Reaktion auftretenden Fasern von intermediärer Enzymaktivität zu Untergruppen der Typ-II-Faser im Skelettmuskel der Maus treffen zu können, wurden an Serienschnitten zusätzlich die von BROOKE und KAISER (5) angegebenen Vorinkubationen der ATPase-Reaktion bei verschiedenen pH-Werten durchgeführt.

Die Präparate wurden unter dem Mikroskop bei 100facher Vergrößerung fotografiert und die Aufnahmen derart vergrößert, daß 2 cm in der Vergrößerung $100\text{ }\mu\text{m}$ des in jedem Film mitfotografierten Objektmikrometers entsprachen.

Von jedem Muskel wurden an einem genau orthograd getroffenen Querschnitt 150 Faserflächen mit einem OTT-Planimeter ausgemessen. Hierzu wurden von den histologischen Präparaten die van Gieson- und von den histochemischen die Phosphorylase-Reaktionen herangezogen.

Es wurde darauf geachtet, daß zusammenhängende Faserverbände planimetriert wurden; zudem wurde versucht, von jedem Fasertyp der histochemischen Präparate eine annähernd gleiche Anzahl von Faserflächen myometrisch zu erfassen. Randfasern wurden nicht miteinbezogen. Um die Genauigkeit der Myometrie zu erhöhen, wurden die Faserflächen jeweils viermal umschrieben, wobei bei der angegebenen Vergrößerung dann $0,1$ Einheit an der Planimeterskala $250\text{ }\mu\text{m}^2$ im histologischen, bzw. histochemischen Präparat entsprachen.

Aus den so erhaltenen Werten der Phosphorylase-Präparate wurden an einer OLIVETTI-Tischrechenmaschine die Mittelwerte, Standardabweichungen und Variabilitätskoeffizienten für die einzelnen Fasertypen errechnet.

Die graphische Darstellung der prozentualen Verteilung der Muskelfasern nach Größe und Typ erfolgte im Gauß-Diagramm und im Wahrscheinlichkeitsnetz.

VI. ERGEBNISSE

1. Histochemische Differenzierung der verschiedenen Fasertypen im Skelettmuskel der Maus.

Zum Verständnis der zu untersuchenden Problemstellung seien zunächst einige einführende Bemerkungen vorausgeschickt:

Es ist seit langem bekannt, daß sich die Muskulatur von Mensch und Säugetier aus zwei Fasertypen zusammensetzt, die aufgrund ihres differenten Myoglobingehaltes als rote, bzw. weiße Muskelfasern bezeichnet werden. Mit den meisten histologischen Techniken gelingt eine Differenzierung dieser Fasertypen allerdings nicht; erst durch einige histochemische Methoden, die erstmals Anfang der Sechzigerjahre angewendet wurden, ließ sich aus dem uniformen histologischen Parenchymbild ein klares Schachbrettmuster zweier Fasertypen herausarbeiten.

DUBOWITZ und PEARSE (77) machten 1960 zusätzlich darauf aufmerksam, daß die beiden Fasertypen sich im Gehalt verschiedener Enzyme reziprok verhalten. Die Typ-I-Faser ist reicher an oxidativen Enzymen (Succinatdehydrogenase, Nicotinamidadenindinucleotiddehydrogenase etc.), die Typ-II-Faser weist stets einen höheren Gehalt an plasmatischen Enzymen (Glucosephosphorylase, myofibrilläre Adensintriphosphatase etc.) auf.

In den meisten dieser histochemischen Reaktionen findet sich neben Fasern mit den Charakteristika der Typ-I-, bzw. der Typ-II-Faser noch eine kleine dritte Fasergruppe, die bezüglich der Intensität der Reaktion eine Zwischenstellung einnimmt. Sie wird als Intermediärfaser bezeichnet.

BROOKE und KAISER (5,6) konnten 1970 durch eine Modifikation der ATPase-Reaktion in Form von Vorinkubationen bei verschiedenen pH-Werten das Vorhandensein dreier Untergruppen von Typ-II-Fasern nachweisen. Gleichzeitig gelang es, am Skelettmuskel des Menschen, der Ratte und des Kaninchens die Intermediärfasern ausnahmslos verschiedenen Untergruppen der Typ-II-Fasern zuzuordnen. Dabei entsprachen beim menschlichen Muskel die Intermediärfasern in den oxidativen Enzymreaktionen den Typ-IIA-Fasern, während sie in der Phosphorylase-reaktion als Typ-IIB-Fasern klassifiziert werden konnten.

Da über einschlägige Untersuchungen für den Mäusemuskel in der Literatur keine Angaben gefunden wurden, war in einem Vorversuch zu klären, welcher Untergruppe der Typ-II-Fasern die Intermediärfasern der im Folgenden für die Auswertung herangezogenen Glucosephosphorylasereaktion am Skelettmuskel der Maus zuzuordnen sind.

Es wurden in Serienschnitten am M. quad. fem. der Maus die sogenannte Standard-Adenosintriphosphatase-Reaktion bei dem pH-Wert 9,4, bzw. nach Vorinkubation mit einem pH-Wert von 4,6, 4,3 und 3,9 und die Glucosephosphorylasereaktion durchgeführt. Es zeigte sich, daß der Mäusemuskel nur Typ-IIA- und Typ-IIB-Fasern enthält. Typ-IIC-Fasern konnten nicht festgestellt werden.

Die bei der Phosphorylasereaktion dem Typ II zuzuordnenden Fasern stellten sich als Typ-IIA-Fasern heraus. Die Intermediärfasern bei dieser Reaktion entsprechen ausschließlich Typ-IIB-Fasern.

Nachdem somit die Zuordnung der Intermediärfasern feststand, stellte sich für die myometrische Auswertung der histochemischen Präparate folgendes Problem: während Typ-I- und Typ-IIA-Fasern in allen Präparaten des M. quad. fem. der Maus in einem etwa ausgewogenen Zahlenverhältnis anzutreffen waren - wobei allerdings die Zahl der Typ-IIA-Fasern diejenige der Typ-I-Fasern konstant gering überschritt - war das Vorkommen von Typ-IIB-Fasern wechselhaft und vergleichsweise gering. Da nur zusammenhängende Gewebsverbände planimetriert wurden, war es in vielen Präparaten nicht möglich, eine größere Anzahl von Typ-IIB-Fasern zu erfassen, während Typ-I- und Typ-IIA-Fasern stets in ausreichender Zahl (s. Kap. V) angetroffen wurden. Die ermittelten Werte von Typ-IIB-Fasern (vgl. Tab. 3) weisen sowohl in der Kontrollgruppe als auch in den Versuchsreihen ungewöhnlich große Streuungen auf, was wahrscheinlich methodisch durch die teilweise sehr geringen Zahlen an ausgewerteten Fasern bedingt ist.

In der Besprechung der Ergebnisse wird deshalb nicht auf das Verhalten der Typ-IIB-Fasern eingegangen, da mit der vorliegenden Arbeit eine verbindliche Stellungnahme zum Einfluß von Corticosteroiden auf die Intermediärfasern noch nicht gegeben werden kann.

2. Myometrische Befunde des normalen M. quadriceps femoris der Maus, gewonnen aus der Kontrollgruppe.

Als Grundlage für die im Folgenden zu besprechenden Befunde der Versuchsreihen ist zunächst der Normalbereich der Kontrollgruppe zu bestimmen.

Entsprechend den in der Methodik angegebenen Kriterien wurden Mittelwert, Standardabweichung und Variabilitätskoeffizient von jeweils 150 Typ-I- und Typ-IIA-Fasern im Phosphorylasepräparat des M. quad. fem. planimetriert, wobei zeitlich korrespondierend zu den Versuchsreihen (vgl. Tab. 3) der Verlauf bis zu 260 Tagen untersucht wurde.

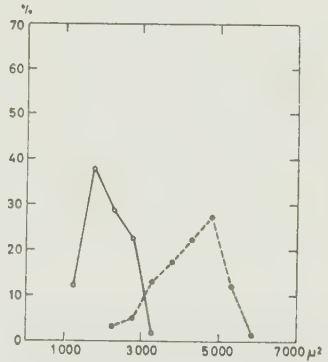
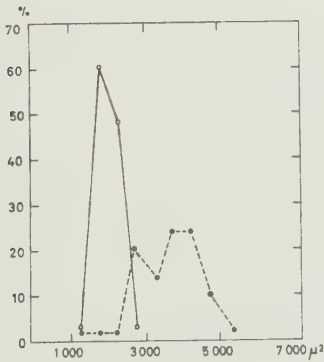
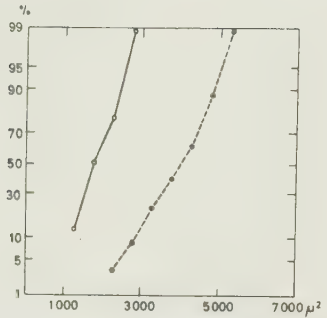
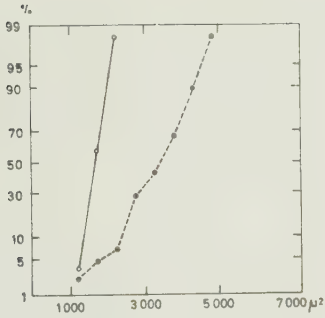
Die erhaltenen Mittelwerte liegen für die Typ-I-Fasern bei $1700 \mu^2 \pm 540$, für die Typ-IIA-Faser bei $5625 \mu^2 \pm 1500$.

Ausnahmslos ist die Typ-IIA-Faser größer als die Typ-I-Faser.

Im zeitlichen Verlauf nehmen die Mittelwerte der Muskelfaserflächen zunächst gering zu, später wieder etwas ab.

Die Variabilitätskoeffizienten liegen zwischen 10 und 35 %.

Die Auftragung der Meßwerte im Wahrscheinlichkeitsnetz ergibt durchwegs Faserverteilungskurven in Form einer Geraden, was das Vorliegen einer Gauß'Normalverteilung belegt (siehe Abb. 3a - d).



3a

3b

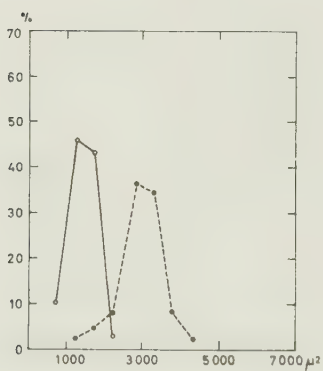
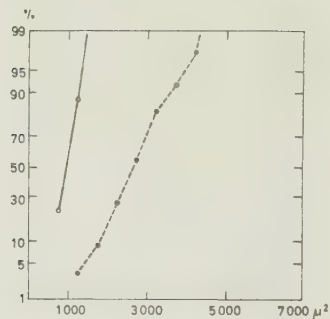
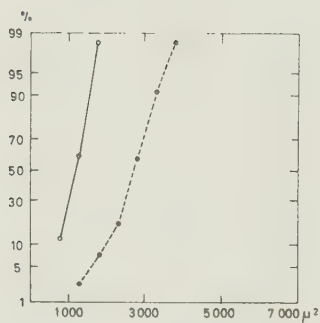
Abb. 3:

Meßwerte von Faserquerschnitten aus der Kontrollreihe, im Wahrscheinlichkeitsnetz und der Gauß-Verteilung aufgetragen.

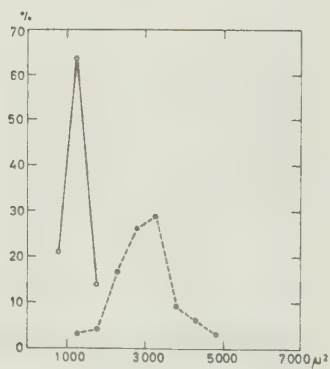
Planimetriert wurden Phosphorylase-Präparate des M.quad.fem.. Den durchgezogenen Kurven entsprechen die Werte der Typ-I-, den gestrichelten die Werte der Typ-IIA-Fasern.

3a: Meßwerte am 1. Versuchstag

3b: Meßwerte mit Beginn der 2. Versuchswoche



3c



3d

3c: Meßwerte am 200. Versuchstag

3d: Meßwerte am 240. Versuchstag

Vergleiche die dazugehörigen Mittelwerte in Tab. 3.

3. Makroskopische Veränderungen und Gewichtsverlauf

Übereinstimmend mit anderen Veröffentlichungen (24,64) konnte bei den Versuchsreihen mit hohen Dosen von Corticosteroiden makroskopisch eine auffallende Blässe der untersuchten Muskeln ebenso wie eine Abnahme des subcutanen Fettgewebes ab der zweiten Versuchswoche festgestellt werden. Bei den Tieren mit mittleren und niederen Steroiddosen traten derartige Veränderungen nicht ein. Eine mit fortschreitender Versuchsdauer zunehmende Verkleinerung der exzidierten Muskeln wurde im Vergleich zu den Kontrolltieren in allen Versuchsreihen mit hohen und mittleren Dosen beobachtet. Ihre Ausprägung korrelierte mit der Höhe der applizierten Corticoiddosis. Bei Verabreichung der niederen Dosen war makroskopisch kein Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe festzustellen.

Im Verlauf des Versuchs fiel unter hoher und mittlerer Dosierung eine zunehmende muskuläre Schwäche und Bewegungsarmut der Tiere auf. So war zu Beginn z.B. ein Spritzen der Tiere nur möglich, wenn sie von einer zweiten Person gehalten wurden. Später konnten die Tiere ohne fremde Hilfe gespritzt werden, da sie auch auf den Einstich nicht mit Fluchtreaktionen reagierten. Setzte man die Tiere auf eine Tischplatte, änderten sie ihre Position unwesentlich.

Da zahlreiche Publikationen (11,24,30,33,58 u.a.) über den Gewichtsverlauf unter Steroidapplikation bereits vorliegen, sind in der vorliegenden Arbeit nur von den Reihen mit hohen Dosen alle Gewichtskurven angegeben. Diese zeigen deutlich, daß einer anfänglichen, kurzfristeten (7 Tage) Gewichtszunahme mit weiterem Versuchsverlauf eine kontinuierliche Gewichtsabnahme folgt (s. Abb. 4), wobei die Werte bereits nach 14 bzw. 21 Tagen unter das Anfangsgewicht abfallen. Zum Vergleich die Gewichtskurve der Kontrollreihe in Abbildung 5.

Als Beispiele für den Gewichtsverlauf der Reihen mit mittleren und niederen Dosen sind die Gewichtskurven unter Dexamethason angeführt (s. Abb. 6).

Unter mittleren Dexamethasondosen nehmen die Tiere zunächst kontinuierlich zu, doch wie Abb. 6a zeigt, erreicht die Ge-

wichtskurve ihr Maximum am 35. Versuchstag mit 36,9 g; die danach einsetzende Gewichtsabnahme erfolgt verzögert - auch in der 8. Woche liegt der errechnete Mittelwert noch deutlich über dem Ausgangsgewicht.

Der Gewichtsverlauf der Versuchsreihe mit niederen Dexamethasondosen unterscheidet sich in dem dargestellten Zeitraum von 8 Wochen unwesentlich von dem der Kontrollreihe.

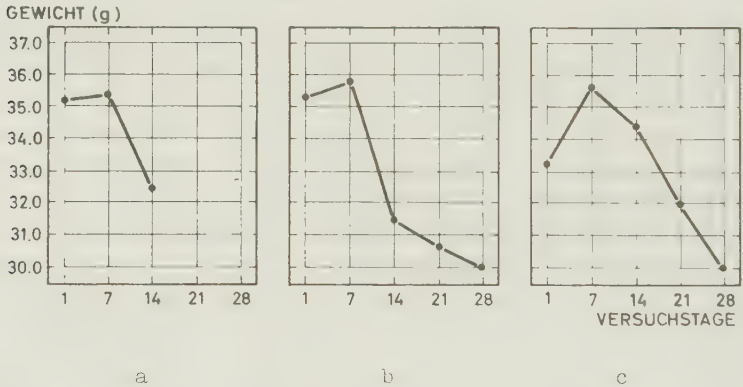


Abb. 4:

Gewichtsverlauf bei der Applikation hoher Dosen von Hydrocortison (a), Triamcinolon (b) und Dexamethason (c).

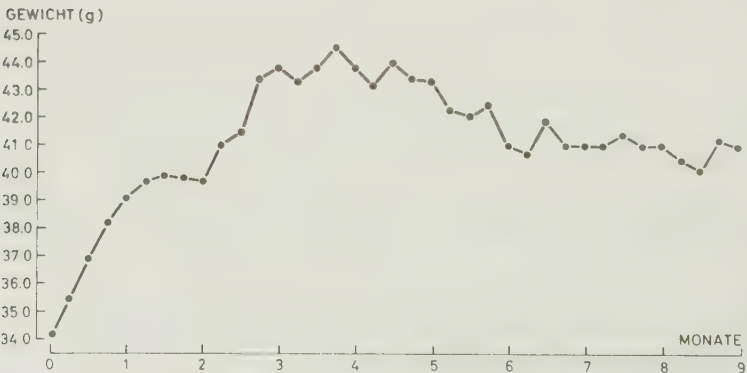
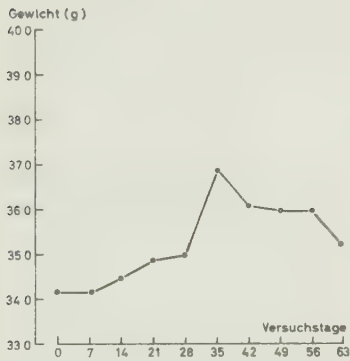
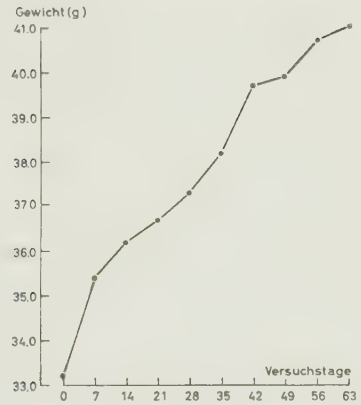


Abb. 5: Gewichtsverlauf der Kontrollreihe



a



b

Abb. 6:

Gewichtsverlauf bei Applikation mittlerer (a) und niederer (b) Dexamethasondosen.

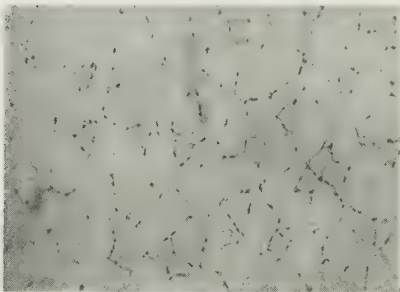
4. Versuchsreihen mit hohen Dosen

Zunächst sind die Versuchsergebnisse der Versuchsreihen I, II und III beschrieben, in denen 50 mg/kg/die Hydrocortison bzw. die äquivalenten Dosen Triamcinolon (10 mg/kg/die) und Dexamethason (2 mg/kg/die) verabreicht wurden.

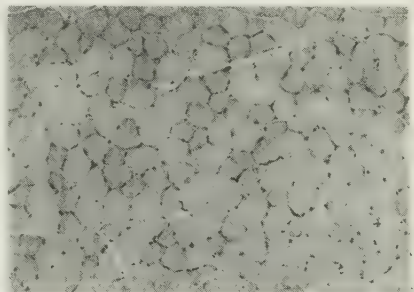
a) Histologie

Nach einmaliger Injektion von 116,7 mg/kg Hydrocortison (I) sind nach 24 Stunden lichtmikroskopisch keine morphologischen Veränderungen feststellbar. Im Querschnitt sind die Muskelfasern regelrecht polygonal konfiguriert. Die Sarkomlemmkerne sind strukturell unauffällig. Zentralständige Kerne sind nicht vorhanden. Man erkennt deutlich größere, sarkoplasmaärmere und kleinere, sarkoplasmareichere Fasern, bunt durcheinandergewürfelt. Degenerative Faserveränderungen sind nicht abgrenzbar (s. Abb. 7a).

Auch nach 4 Tagen ändert sich dieses Bild nicht wesentlich. Allerdings ist eine leichte Abrundungstendenz und eine größenmäßige Angleichung der Fasern sowie das vereinzelt Auftreten mittelständiger Kerne zu verzeichnen (s. Abb. 7b). Diese Befunde sprechen für eine geringfügige unspezifische myopathische Reaktion.



a



b

Abb. 7:

Hydrocortison, hohe Dosis, M. quad. fem.

van Gieson-Färbung, 100fache Vergrößerung

7a: 24 Stunden nach Injektion von 116,7 mg/kg, 2. Versuchstag

7b: 24 Stunden nach Injektion von 2·116,7 mg/kg, 4. V.-Tag

Nach einer erneuten Hydrocortisongabe und weiteren 24 Stunden erscheinen die Faserdurchmesser im histologischen Schnitt insgesamt verkleinert und die verschiedenen Fasern haben sich in ihrer Größe weiter angeglichen. Im weiteren Versuchsverlauf kommt es zu keinen zusätzlichen Veränderungen.

In der Versuchsreihe II mit hohen Triamcinolondosen treten ähnliche Veränderungen an den histologischen Präparaten auf. Auffallend ist im Vergleich zu Versuchsreihe I, daß unter 10 mg/kg/die Triamcinolon bereits am ersten, dem der Anfangsmedikation folgenden Tag die Faserquerschnitte kleiner und abgerundet imponieren (s. Abb. 7a und Abb. 8).

Mit weiterer Medikation verlieren die Fasern noch mehr an Größe und mittelständige Kerne treten auf. Vereinzelt werden vakuoläre Degenerationen angetroffen. Fasernekrosen lassen sich während der gesamten Versuchsdauer nicht beobachten.

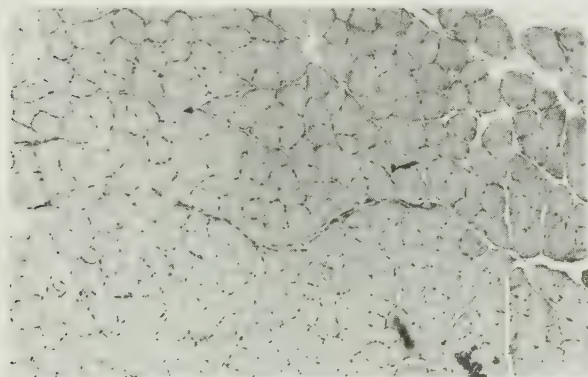


Abb. 8:

Triamcinolon, hohe Dosis, M. quad. fem.
van Gieson-Färbung, 100fache Vergrößerung
24 Stunden nach Injektion von 25,3 mg/kg Triamcinolon

Auch das erste Präparat der Dexamethasonreihe (III) zeigt insgesamt kleinere Faserflächen als es bei dem entsprechenden Hydrocortisonpräparat der Fall ist. Das Auftreten mittelständiger Kerne ist bereits nach Injektion von 2,4,7 mg/kg zu beobachten. Das weitere Verhalten der Muskelfasern

unterscheidet sich nicht von dem oben beschriebenen der Reihe II.

b) Myometrie der histochemischen Präparate

Die numerischen Ergebnisse der Versuchsreihen I, II und III, die anhand der Phosphorylase-Präparate gewonnen wurden, sind aus Tabelle 3 zu entnehmen.

Eine Zunahme der Faserfläche der Typ-I-Fasern vom 1. bis zum 7. Versuchstag um 43,9 % ergab sich bei einer Hydrocortison-gesamtapplikation von 350 mg/kg. Die Faserfläche der Typ-IIA-Fasern nahm in der gleichen Zeit um 47,4 % ab.

Unter Triamcinolon wurden die myometrischen Werte für die Typ-IIA-Faserquerschnittsflächen innerhalb von 10 Tagen bei einer Gesamtdosis von 93,2 mg/kg um 48,9 % kleiner. Die Flächenvergrößerung des Querschnitts der Typ-I-Fasern betrug 51,1 %.

Aus den myometrisch erhaltenen Werten der III. Versuchsreihe mit hohen Dexamethasondosen ergab sich ein ähnliches Verhalten der Fasertypen: am 14. Tag nach Versuchsbeginn betrug bei einer Gesamtdosis von 23,5 mg/kg die planimetrierte Fläche der Typ-IIA-Fasern nur noch 55,2 % der am 1. Tag gemessenen Größe. Die Flächenzunahme der Typ-I-Fasern belief sich auf 56,9 % (s. Tab. 2).

Faßt man diese Ergebnisse zusammen, so ergibt sich folgender auffälliger Befund: der Abnahme der Faserfläche der Typ-IIA-Fasern steht eine Zunahme der Typ-I-Faserfläche gegenüber.

Versuchsreihe	I	II	III
	Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Typ-I-Fasern	+ 43,9 %	+ 51,1 %	+ 56,9 %
Typ-IIA-Fasern	- 47,4 %	- 48,9 %	- 44,8 %

Tab. 2:

Prozentuale Veränderungen der Faserquerschnittsflächen unter hoher Steroiddosierung

Tabelle 2 macht deutlich, daß es sich nicht um eine relative Zu- bzw. Abnahme der Faserflächen handelt, sondern um abso-

lute Größenveränderungen.

Das durch die Steroidgaben induzierte Verhalten der Einzelfasern muß zwangsläufig zu einer Umkehr in ihrem Größenverhältnis führen. Diese Umkehr tritt tatsächlich bei allen drei Reihen zwischen dem 3. und 7. Versuchstag ein.

D'AGOSTINO (10,11) macht in seiner Publikation über einen Versuch mit 10 mg/kg/die Cortisonacetat am Kaninchen auf die Möglichkeit einer Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-II-Fasern aufmerksam. Der Beweis für die Umkehr des Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern und die Nachzeichnung durch die Planimetrie quergeschnittener Muskelfasern kann nunmehr mit dieser Arbeit erbracht werden (s. Abb. 9 - 12).

Tabelle 2 erlaubt, weitere Feststellungen zu treffen: vergleicht man die einzelnen Spalten miteinander, so nimmt die im normalen Muskel kleinere Typ-I-Faser in den Reihen II und III um einige Prozent mehr an Fläche zu als die größere Typ-IIA-Faserfläche prozentual abnimmt.

In Reihe I liegt die Flächenzunahme der Typ-I-Fasern prozentual unter der Flächenabnahme der Typ-IIA-Fasern. Da die Typ-I-Fasern aber nur eine etwa halb so große Querschnittsfläche wie die Typ-IIA-Fasern besitzen, überwiegt auch für die Reihen II und III insgesamt gesehen die Verkleinerung der Faserflächen. Dies macht verständlich, daß mit fortschreitender Versuchsdauer die Präparate neben einer Umkehr des Faserverhältnisses als Gesamteindruck das Bild kleinerer Faserflächen vermitteln (s. Abb. 13).

Aus den myometrischen Werten für die Kontrollreihen ergibt sich, daß die Typ-I-Faserflächen nur 47 % von der Größe der Typ-IIA-Faserflächen betragen.

Aus der Tabelle geht weiter hervor, daß Dexamethason an den Typ-I-Fasern zu quantitativ stärkeren Veränderungen führt als Triamcinolon, welches wiederum die Hydrocortisonwirkung übertrifft.

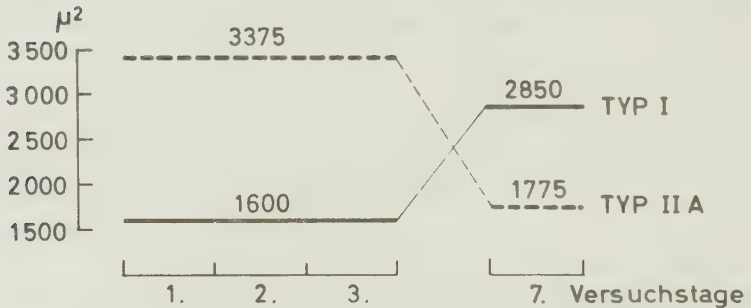
Zudem tritt eine an den Typ-IIA-Fasern quantitativ größere Veränderung ein als an den Typ-I-Fasern.

Betrachtet man den Kurvenverlauf der Meßwerte (Abb. 10 - 12), so zeigt sich besonders unter Dexamethason, weniger unter

Triamcinolon und noch weniger ausgeprägt unter Hydrocortison im Wahrscheinlichkeitsnetz eine Abweichung vom Kurvenverlauf einer Geraden.

Die Gauß-Verteilungskurven werden breiter, was eine myopatische Parenchymalteration mit vermehrten Kalibervariationen der Fasern meßtechnisch belegt.

HYDROCORTISON



TRIAMCINOLON

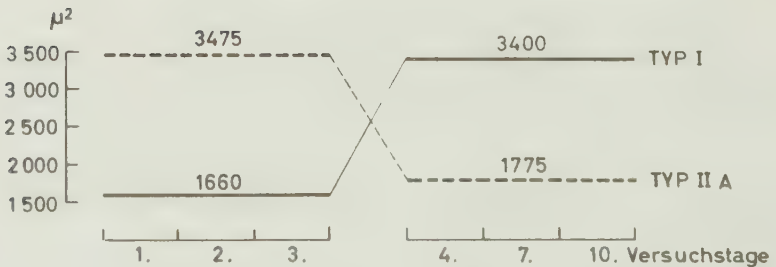


Abb. 9:

Graphische Darstellung der Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern unter hohen Corticoiddosen.

Die eingezeichneten Flächenwerte sind Mittelwerte, errechnet aus den in Tab. 3 angegebenen Werten vor, bzw. nach der Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Fasern.

DEXAMETHASON

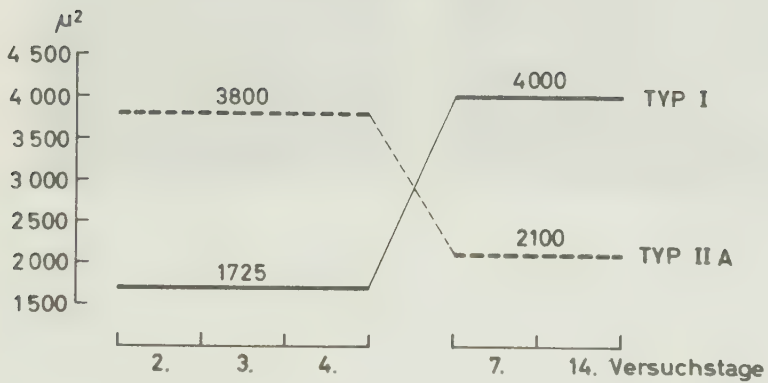


Abb. 9:

Legende s. S. 30

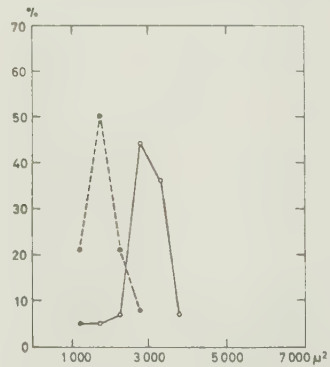
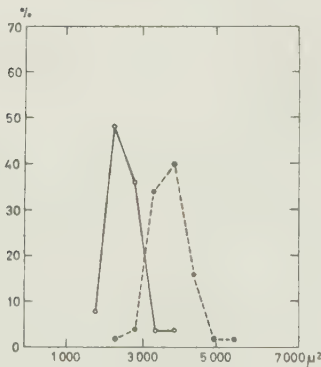
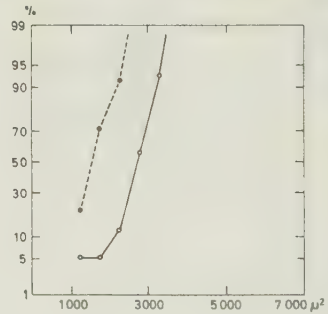
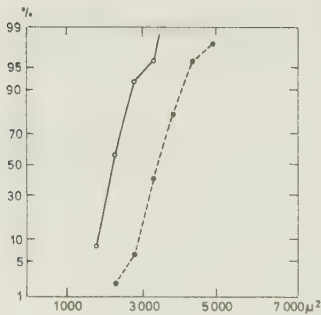
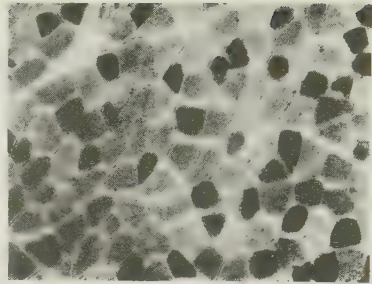
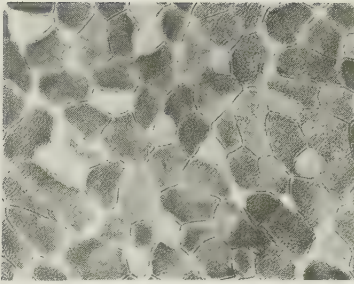


Abb. 10:

a

b

Darstellung der Faserumkehr unter hoher Hydrocortisonappli-
kation anhand der Photographie von Phosphorylasepräparaten,
durch Auftragen der planimetrierten Werte im Wahrscheinlich-
keitsnetz und in der Gauß' Verteilung.

Der Abb. 10a entsprechen die Werte des 2., der Abb. 10b die
des 4. Versuchstages.

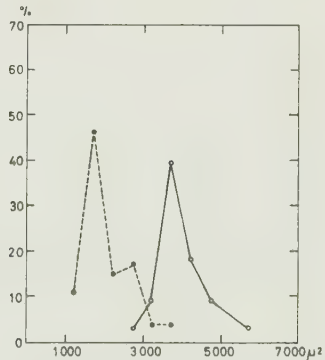
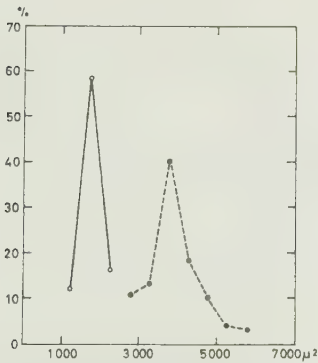
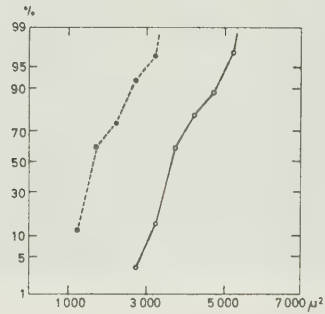
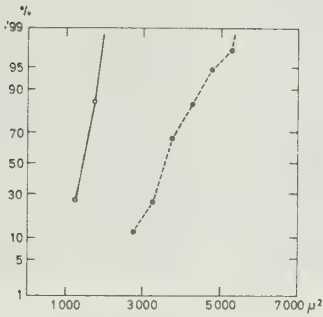
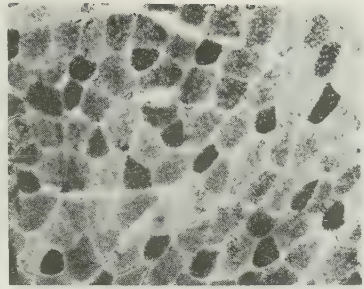
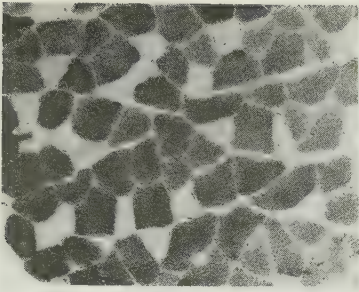


Abb. 11: a

b

Darstellung der Faserumkehr unter hoher Triamcinolonappli-

kation. Der Abb. 11a entsprechen die Werte des 1., der Abb. 11b die des 5. Versuchstages.

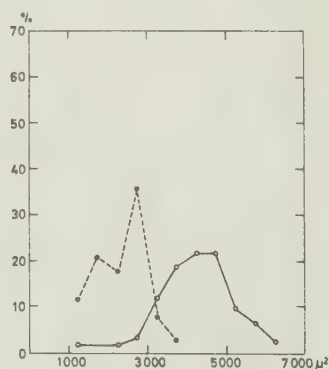
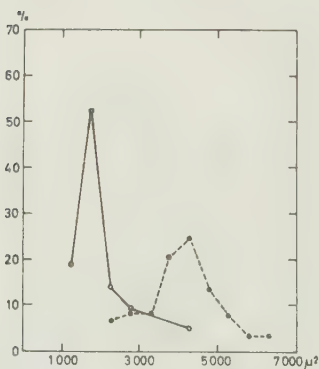
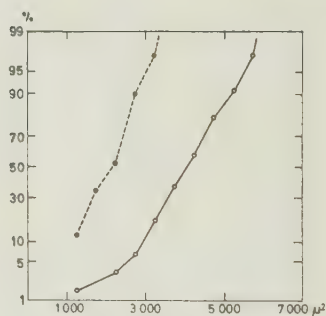
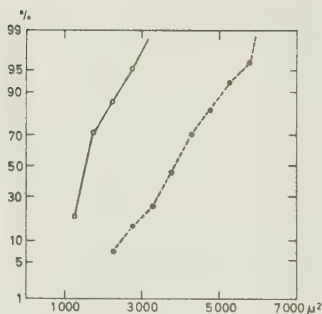
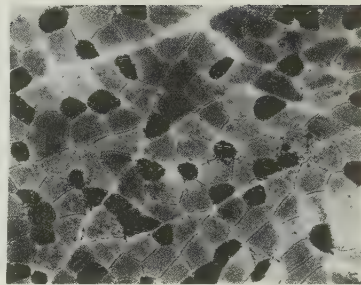
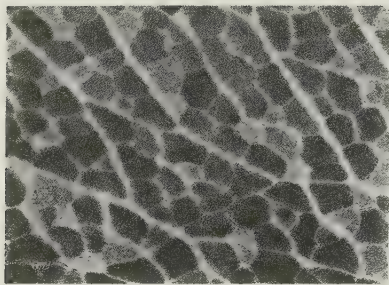


Abb. 12:

a

b

Darstellung der Faserumkehr unter hoher Dexamethasonappli-
kation.
Der Abb. 12a entsprechen die Werte des 4., der Abb. 12b die
des 5. Versuchstages

5. Versuchsreihen mit mittleren Dosen

a) Histologie

Bei den Reihen IV, V und VI fällt mit fortschreitender Versuchsdauer wiederum eine Angleichung der Einzelfasergrößen und die deutliche Verkleinerung des Faserquerschnitts auf.

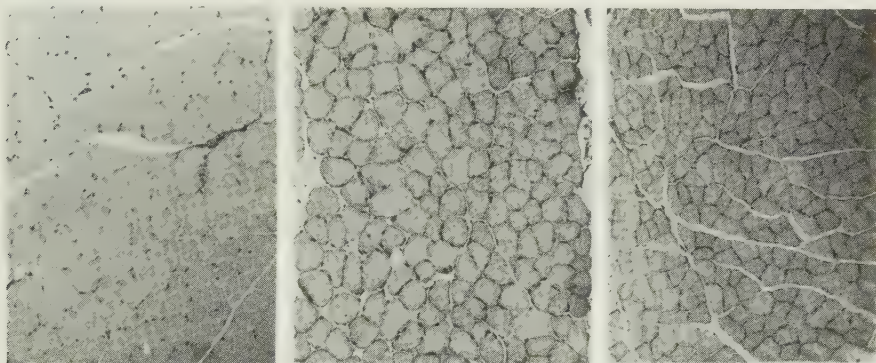


Abb. 13: a

b

c

Triamcinolon, mittlere Dosis, M. quad. fem.
van Gieson-Färbung, 100fache Vergrößerung

12a: Muskelquerschnitt 24 Stunden nach Injektion von
2,3 mg/kg Triamcinolon
histologisch normal erscheinender Muskel

12b: Muskelquerschnitt am 30. Versuchstag
10 • 2,3 mg/kg Triamcinolon
deutliche Abrundung der Fasern mit geringen
Kaliberschwankungen (vgl. Abb. 8)

12c: Muskelquerschnitt am 140 Versuchstag
47 • 2,3 mg/kg Triamcinolon (= 108,1 mg/kg)
erhebliche Abnahme der Faserkaliber, mittelständige
Kerne

Aktivierte und mittelständige Kerne treten im Hydrocortison-
versuch (IV) am 12., im Triamcinolonversuch (V) am 7. und
im Dexamethasonversuch (VI) bereits am 5. Tag nach Versuchs-
beginn auf.

b) Myometrie der histochemischen Präparate

Myometrisch zeigt sich unter Hydrocortison in der angegebenen Dosis in dem Beobachtungszeitraum von 56 Tagen keine Umkehr der Fasergröße. Vom 42. Versuchstag an zeichnet sich jedoch eine deutliche Atrophietendenz beider Fasertypen ab.

Im Versuch mit Triamcinolon finden sich zunächst analoge Verhältnisse. In dem über längere Zeit fortgeführten Versuch kann aber am 200. Versuchstag eine Umkehr des normalen Größenverhältnisses zwischen Typ-I- und Typ-IIA-Fasern nachgewiesen werden. Diese Umkehr wird nach weiteren 40 Tagen nochmals bestätigt. Die Meßwerte des 260. Versuchstages zeigen eine Rückkehr zur normalen Größenrelation. Eine zunehmende Atrophie beider Fasertypen zeigt sich deutlich (s. Abb. 14 und 15).

Im Fall der mit Dexamethason behandelten Tiere folgt der geringfügigen Vergrößerung der Faserflächen beider Typen am 4. Versuchstag eine bis zum 14. Tag anhaltende Umkehr des Größenverhältnisses der Fasern. Am 21. Versuchstag hat sich das Größenverhältnis der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern wieder normalisiert und bleibt bis zum Versuchsende unverändert. Eine Atrophietendenz ist nicht erkennbar. Die Abbildungen 14 und 16 veranschaulichen diese Ergebnisse.

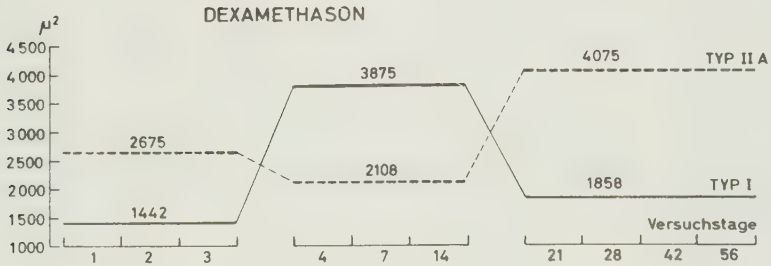
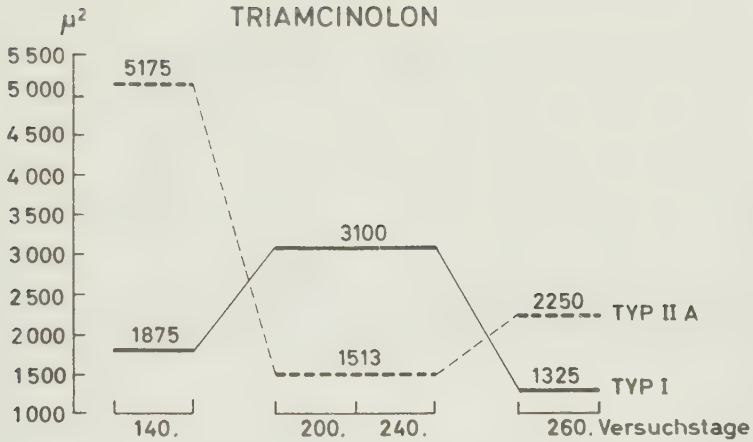


Abb. 14:

Darstellung der Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Fasern unter mittleren Corticoiddosen und der Rückkehr zu der normalen Größenrelation der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern. Die eingezeichneten Flächenwerte sind Mittelwerte, errechnet aus den entsprechenden in Tab. 3 angegebenen Werten.

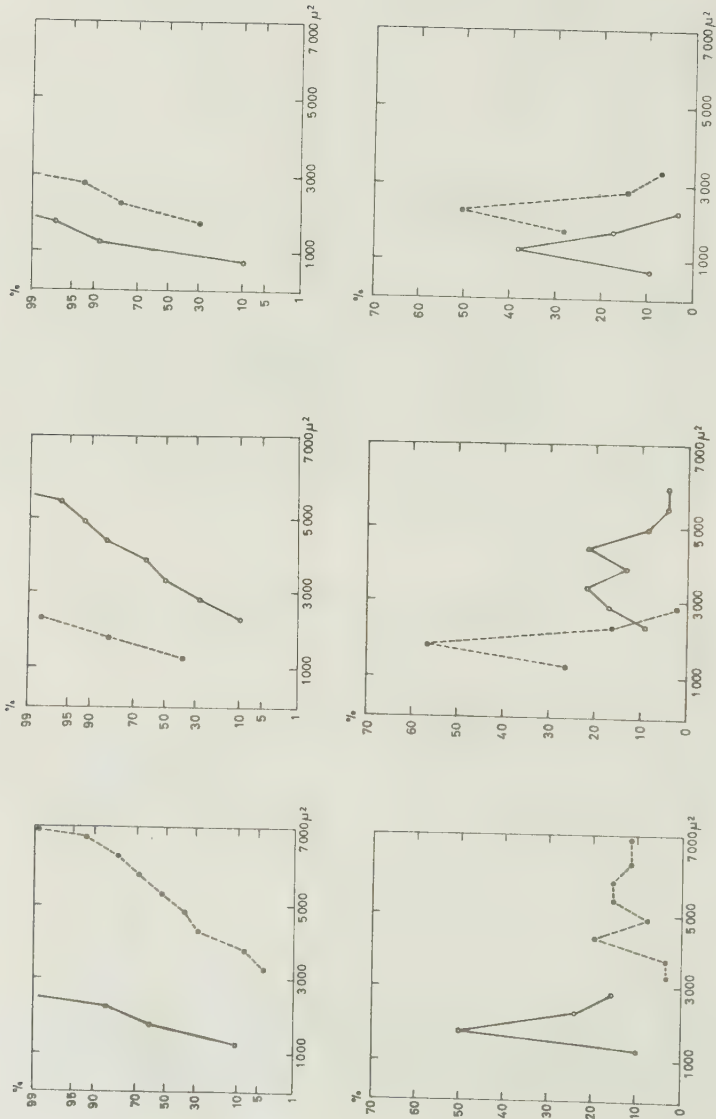


Abb. 15: a

b

c

Darstellung der Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern unter mittleren Triamcinolon Dosen. 15a entspricht dem 140., 15b dem 240. und 15c dem 260. Versuchstag. Die graphische Aufzeichnung erfolgte im Wahrscheinlichkeitsnetz und in der Gauß-Verteilung, wobei die durchgezogenen Kurven wieder den Typ-I-, die gestrichelten den Typ-IIA-Fasern entsprechen.

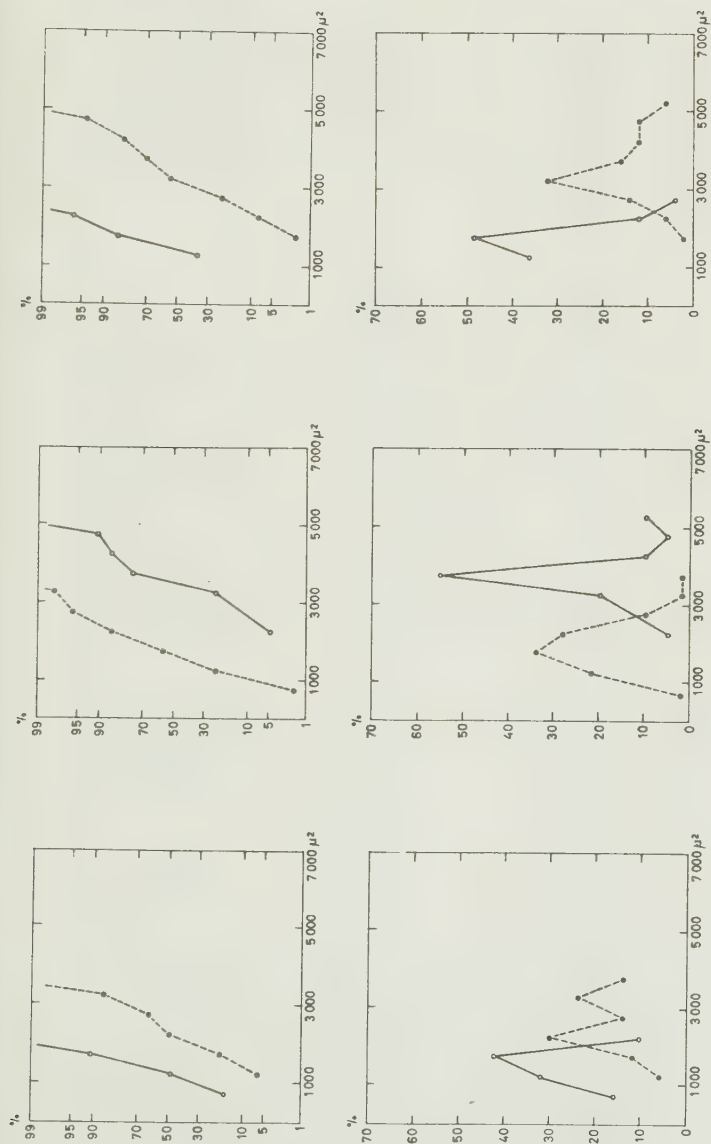


Abb. 16: a

b

c

Darstellung der Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern unter mittleren Dexanethasondosen.
 16a entspricht dem 2., 16b dem 7. und 16c dem 21. Versuchstag.
 Die graphische Aufzeichnung erfolgte im Wahrscheinlichkeitsnetz und in der Gauß-Verteilung, wobei die durchgezogenen Kurven wieder den Typ-I-, die gestrichelten den Typ-IIA-Fasern entsprechen.

6. Versuchsreihe mit niederen Dosen

a) Histologie

Anhand der histologischen Präparate der Versuchsreihen VII, VIII und IX lassen sich im Vergleich mit den Schnitten normaler Muskeln keine Veränderungen unter der Einwirkung niederer Steroiddosen feststellen.

b) Myometrie der histochemischen Präparate

Die Planimetrie der histochemischen Präparate erbrachte keine signifikanten Größenänderungen der Muskelfasern im Vergleich zur Kontrollreihe. Während bei der Hydrocortison-medikation (VII) eine geringfügige Abnahme der Werte erkennbar ist, stellt man, verfolgt man die Werte der Triamcinolonreihe (VIII), insgesamt eine geringe Zunahme der Faserflächen fest. Unter Dexamethason (IX) schwanken die Werte.

In keiner Versuchsreihe kann eine Umkehr der normalen Größenrelation zwischen Typ-I- und Typ-IIA-Fasern nachgewiesen werden.

Siehe Tabelle 3.

Die folgende Tabelle 3 (s. S. 41 ff.) gibt die aus den planimetrierten Werten für die Faserflächen des M. quad. fem. in den Phosphorylasepräparaten errechneten Mittelwerte (MW) der Faserquerschnitte, die Standardabweichungen (ST) und die Variabilitätskoeffizienten (VK) für alle Versuchsreihen und die Kontrollreihe wieder.

Kontrollreihe

		Tage		Tage		Tage	
Typ I	MW	1	1925	35	1550	100	1860
	ST		275		425		775
	VK		14,88		27,93		34,56
Typ IIA	MW		3550		3150		2425
	ST		800		750		825
	VK		22,62		23,93		21,46
Typ IIB	MW		4575		3475		3125
	ST		475		200		850
	VK		10,30		5,50		34,95
Typ I	MW	7	1525	42	2000	140	2125
	ST		400		475		375
	VK		27,16		23,77		10,79
Typ IIA	MW		5325		4100		2800
	ST		1850		800		200
	VK		34,40		19,28		21,94
Typ IIB	MW		6500		3525		3125
	ST		1575		475		675
	VK		24,20		13,30		25,43
Typ I	MW	14	1800	49	1600	200	2200
	ST		375		625		500
	VK		20,92		38,48		23,10
Typ IIA	MW		4125		3900		3925
	ST		900		825		625
	VK		21,94		21,32		15,90
Typ IIB	MW		5125		3600		3225
	ST		775		625		225
	VK		24,50		17,60		21,00
Typ I	MW	21	1325	56	2140	240	1125
	ST		300		275		225
	VK		23,30		22,81		21,00
Typ IIA	MW		2850		3625		2900
	ST		525		1170		750
	VK		18,81		27,73		25,76
Typ IIB	MW		4675		3400		2850
	ST		1250		425		700
	VK		26,71		19,83		25,50
Typ I	MW	28	1625	91	1925	260	1950
	ST		400		175		1625
	VK		24,32		19,46		34,10
Typ IIA	MW		3625		3675		2425
	ST		975		200		475
	VK		27,00		23,81		19,90
Typ IIB	MW		3325		3575		3800
	ST		325		425		850
	VK		10,10		28,54		22,30

Hohe Dosen

Versuchsreihe			I	II	III
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Tage					
Typ I	MW	1	1050	1650	
	ST		175	325	
	VK		17,50	19,41	
Typ IIA	MW		3200	3825	
	ST		700	675	
	VK		21,83	17,75	
Typ IIB	MW		3075	1950	
	ST		700	375	
	VK		23,00	19,60	
Typ I	MW	2	2425	1660	1675
	ST		450	725	475
	VK		18,25	18,30	27,91
Typ IIA	MW		3600	3475	4175
	ST		475	700	1075
	VK		13,06	21,80	25,96
Typ IIB	MW		1700	2875	3900
	ST		650	225	750
	VK		38,80	19,31	18,90
Typ I	MW	3	1300	1675	1575
	ST		250	500	350
	VK		20,00	30,64	22,72
Typ IIA	MW		3350	3125	3175
	ST		1025	1025	975
	VK		30,23	32,44	30,94
Typ IIB	MW		3750	4475	4300
	ST		625	900	725
	VK		16,60	19,83	16,80
Typ I	MW	4		3650	1900
	ST			625	675
	VK			17,47	35,95
Typ IIA	MW			1825	4050
	ST			475	1025
	VK			26,03	25,55
Typ IIB	MW			3775	4150
	ST			500	475
	VK			12,98	11,50

Hohe Dosen

Versuchsreihe			I	II	III
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
			Tage		
Typ I	MW	7	2850	3975	4225
	ST		500	650	950
	VK		17,85	16,41	22,37
Typ IIA	MW		1775	2100	2200
	ST		400	650	625
	VK		23,11	30,85	27,80
Typ IIB	MW		2350	3225	4050
	ST		375	725	425
	VK		16,30	22,32	10,30
Typ I	MW	10		2600	
	ST			425	
	VK			16,12	
Typ IIA	MW			1425	
	ST			325	
	VK			23,53	
Typ IIB	MW			2250	
	ST			475	
	VK			21,30	
Typ I	MW	14			3775
	ST				525
	VK				13,69
Typ IIA	MW				1975
	ST				425
	VK				20,91
Typ IIB	MW				2075
	ST				450
	VK				22,30

Fehlende Meßwerte ergaben sich durch das vorzeitige Sterben der Versuchstiere.

Mittlere Dosen

Versuchsreihe			IV	V	VI
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Tage					
Typ I	MW	1	1950	1750	1225
	ST		775	325	250
	VK		39,65	24,08	19,76
Typ IIA	MW		3200	4325	2250
	ST		725	850	725
	VK		22,47	16,81	32,83
Typ IIB	MW		3875	4050	4300
	ST		725	1025	1025
	VK		18,90	12,90	23,70
Typ I	MW	2	1775	2000	1450
	ST		500	250	425
	VK		28,32	33,08	29,53
Typ IIA	MW		4800	4875	2575
	ST		1025	775	750
	VK		21,09	12,21	28,87
Typ IIB	MW		4450	3825	3175
	ST		575	900	875
	VK		12,80	23,00	27,73
Typ I	MW	3	1925	1900	1650
	ST		400	600	325
	VK		20,35	19,90	19,74
Typ IIA	MW		3875	5355	3200
	ST		975	1025	975
	VK		25,13	12,75	30,56
Typ IIB	MW		3675	3650	3325
	ST		525	125	800
	VK		14,10	7,21	24,04
Typ I	MW	4	1250	1750	4625
	ST		275	900	1000
	VK		22,88	11,05	21,64
Typ IIA	MW		3700	4575	2425
	ST		925	475	850
	VK		25,37	18,13	35,22
Typ IIB	MW		3850	4300	4875
	ST		325	1025	1175
	VK		8,70	31,19	24,09

Mittlere Dosen

Versuchsreihe			IV	V	VI
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Tage					
Typ I	MW	7	1950	1875	3625
	ST		600	175	1600
	VK		30,99	22,79	43,88
Typ IIA	MW		3525	5200	1950
	ST		900	250	775
	VK		25,96	25,52	39,78
Typ IIB	MW		3850	3725	3925
	ST		475	625	725
	VK		12,50	19,63	18,13
Typ I	MW	14	1525	2375	3375
	ST		275	650	600
	VK		17,29	19,90	17,79
Typ IIA	MW		4650	5675	1950
	ST		1025	1125	350
	VK		22,04	14,53	18,10
Typ IIB	MW		4450	3675	3425
	ST		600	275	750
	VK		13,30	18,13	21,80
Typ I	MW	21	2225	1450	1600
	ST		500	675	375
	VK		22,51	11,83	23,56
Typ IIA	MW		4700	4875	3475
	ST		675	375	775
	VK		14,14	12,50	22,68
Typ IIB	MW		4300	4225	4575
	ST		875	600	1075
	VK		20,30	17,78	23,64
Typ I	MW	28	1550	1950	1125
	ST		375	475	275
	VK		23,91	13,00	23,60
Typ IIA	MW		3900	5250	2675
	ST		1025	175	675
	VK		26,23	28,30	25,43
Typ IIB	MW		3900	3800	2675
	ST		725	350	700
	VK		18,30	16,45	25,92

Mittlere Dosen

Versuchsreihe			IV		V		VI	
			Hydrocortison		Triamcinolon		Dexamethason	
			Tage		Tage		Tage	
Typ I	MW	42	1025	42	1975	42	1300	
	ST		250		275		200	
	VK		24,20		8,91		14,82	
Typ IIA	MW		2050		5350		3175	
	ST		600		900		1000	
	VK		29,20		35,00		31,27	
Typ IIB	MW		2875		4025		2675	
	ST		600		600		450	
	VK		20,50		18,89		16,54	
Typ I	MW	56	1300	100	1775	56	1550	
	ST		350		450		250	
	VK		20,21		21,30		22,21	
Typ IIA	MW		2775		5175		3000	
	ST		650		775		825	
	VK		23,25		26,76		27,14	
Typ IIB	MW		4100		3500		3750	
	ST		1300		550		1250	
	VK		31,91		11,12		61,60	

Für die Versuchsreihe V ergaben sich weitere Werte:

Typ I	MW	140	1875	240	3625	
	ST		350		900	
	VK		18,85		25,00	
Typ IIA	MW		5175		1625	
	ST		1100		300	
	VK		21,28		18,20	
Typ IIB	MW		4275		3375	
	ST		1300		750	
	VK		30,38		22,20	
Typ I	MW	200	2575	260	1325	
	ST		1275		300	
	VK		49,40		22,80	
Typ IIA	MW		1400		2250	
	ST		475		425	
	VK		33,30		18,50	
Typ IIB	MW		3050		2850	
	ST		575		525	
	VK		18,72		18,10	

Niedere Dosen

Versuchsreihe			VII	VIII	IX
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Tage					
Typ I	MW	7	1150	1025	825
	ST		175	250	150
	VK		15,20	25,30	17,22
Typ IIA	MW		2675	2050	2300
	ST		650	650	750
	VK		24,46	31,30	32,55
Typ IIB	MW		3100	1850	4950
	ST		950	575	1275
	VK		30,35	30,96	26,00
Typ I	MW	14	1325	1150	1700
	ST		400	225	250
	VK		23,83	20,50	14,70
Typ IIA	MW		2025	2450	2250
	ST		150	475	700
	VK		19,45	19,00	30,72
Typ IIB	MW		1975	3825	5325
	ST		225	500	1225
	VK		34,61	14,14	22,79
Typ I	MW	28	1600	1350	1050
	ST		725	300	200
	VK		32,74	22,70	20,20
Typ IIA	MW		2375	3275	2400
	ST		955	550	500
	VK		13,49	16,50	21,47
Typ IIB	MW		2850	2100	3525
	ST		350	325	500
	VK		18,13	16,00	14,20
Typ I	MW	42	1025	1625	875
	ST		650	400	100
	VK		26,60	24,40	11,42
Typ IIA	MW		1950	3150	1550
	ST		500	700	400
	VK		26,83	22,20	25,95
Typ IIB	MW		2175	3225	2775
	ST		800	525	400
	VK		19,63	16,20	14,70

Niedere Dosen

Versuchsreihe			VII	VIII	IX
			Hydrocortison	Triamcinolon	Dexamethason
Tage					
Typ I	MW	56	1250	1250	1475
	ST		275	825	225
	VK		14,83	65,01	15,65
Typ IIA	MW		2455	3175	3475
	ST		350	650	650
	VK		20,98	20,89	19,04
Typ IIB	MW		1150	1775	4450
	ST		275	475	550
	VK		15,90	26,90	12,40

Für die Versuchsreihe VIII ergaben sich weitere Werte:

Typ I	MW	100	1225	240	1300
	ST		225		275
	VK		18,95		20,90
Typ IIA	MW		1925		3825
	ST		350		700
	VK		18,30		18,20
Typ IIB	MW		1900		3350
	ST		625		625
	VK		32,80		18,80
Typ I	MW	140	1875	260	1850
	ST		225		300
	VK		19,76		16,22
Typ IIA	MW		2450		3700
	ST		250		725
	VK		25,30		19,30
Typ IIB	MW		1950		3725
	ST		575		925
	VK		30,96		24,84
Typ I	MW	200	1600		
	ST		475		
	VK		29,77		
Typ IIA	MW		1975		
	ST		750		
	VK		38,38		
Typ IIB	MW		2425		
	ST		675		
	VK		28,03		

VII. DISKUSSION

Die Eigenschaft der Corticoide, an der Muskulatur Veränderungen hervorzurufen, war nach den Beobachtungen CUSHINGS (12) Grundlage zahlreicher klinischer (4,12,16,21,25,35,37, 43,45,50,55,57,58,79,80-88) und tierexperimenteller (1,2,13, 14,17,18,23,24,28,29-32,38,39,56,60,62,64,68-72,74,76,77) Untersuchungen.

Als Versuchstiere wurden Hunde (23,24), Kaninchen (1,2,13, 14,17,18,28-30,39,42,60,62,70), Ratten (31,56,64,68,69,71, 72,77) und Mäuse (2,24,32,76) verwendet (vgl. Tab. 1).

Die Auswertung der Tierversuche erfolgte durch elektromyographische Untersuchungen (29,30,32), durch Gewichtsbestimmung der geschädigten Muskeln auf der Analysenwaage (24,31, 56), deren Umfangsmessung (23,24) und durch chemische Analysen (17,32). Sehr groß ist der Anteil an Arbeiten, in denen die Ergebnisse anhand elektronen- und lichtmikroskopischer Untersuchungen von histologischen und histochemischen Präparaten dargestellt werden (1,2,13,14,17,18,19,64,71,76, 77).

Experimente, in denen myopathische Veränderungen chronologisch verfolgt und festgehalten wurden, finden sich erst in jüngster Zeit. So veröffentlichten AFIFI (2) 1968 und PETER (56) 1970 Tabellen über Gewichtsabnahmen sowie elektronen- und lichtmikroskopische Befunde in zeitlicher Reihenfolge. Veränderungen wie Vakuolenbildung, Glykogeneinlagerung und Mitochondrienquellung lassen sich anhand von Bildern ebenso gut verfolgen wie eine Gewichtsabnahme durch Tabellen. Eine exakte Aussage über die Größenab- oder -zunahme des einzelnen Faserquerschnitts, die über den optischen Vergleich hinausgeht, kann auf diese Weise jedoch nicht gegeben werden. Hierzu sind Methoden erforderlich, die die präzise Größenbestimmung jeder einzelner Faser zulassen.

Neben der Möglichkeit, die einzelnen Faserquerschnitte aus entsprechend vergrößerten Photographien zu schneiden und anschließend auf einer Analysenwaage zu wiegen, um aus dem Gewicht Rückschlüsse auf Größenunterschiede zu ziehen (eine sehr zeitraubende und dennoch nicht vollkommen befriedigende

Methode), besteht eine weitere Möglichkeit in der Messung der Faserdurchmesser unter dem Mikroskop mit Hilfe des Okularmikrometers. Diese Methode wird von MITTELBACH und PONGRATZ (76) gewählt. WALSH (71) führte vier Jahre später (1971) eine ähnliche Messung durch: an vergrößerten Photographien der Muskelschnitte bestimmte er mit einem Millimeterlineal den jeweils kleinsten Faserdurchmesser.

In der vorliegenden Arbeit wird von einer dritten Möglichkeit, zu einer objektiven Bestimmung der Fasergröße zu kommen, Gebrauch gemacht. Diese - allerdings sehr aufwendige - Methode ist von den Beschriebenen als die Genaueste anzusehen: die Planimetrie von im Schnitt genau orthograd getroffener Muskelfasern an vergrößerten Aufnahmen der Muskelpräparate. Hierbei werden die Flächengrößen direkt an der Planimeterskala abgelesen und basieren so nicht auf Näherungsrechnungen.

Die so durchgeführte getrennte Myometrie der Fasertypen fußt auf der Möglichkeit der histochemischen Differenzierung verschiedener Fasertypen im Muskel, wie sie im Abschnitt VI/1 dargestellt ist. Zur Auswertung werden nur die zwei Hauptfasertypen herangezogen (Typ-I-Faser, Typ-IIA-Faser), die zahlenmäßig kleine Gruppe von Typ-IIB-Fasern (ist gleich Intermediärfasern) bleibt unberücksichtigt (vgl. S. 19). Auf diese Weise lassen sich zwei wesentliche myometrisch faßbare Befunde im Rahmen der Corticosteroidmyopathie herausstellen:

I. Es kommt zu einer Atrophie der Typ-IIA-Fasern. Eine Atrophie der Typ-II-Fasern wird von SMITH (62), MITTELBACH und PONGRATZ (52), SERRATRICE (60), VIGNOS (70), WHITE (72) und WALSH (71) in experimentell erzeugten Steroidmyopathien und von MENDELL (47), ENGEL (91) und PLEASURE (57) an klinischen Fällen beschrieben.

Die Atrophie der Typ-II-Fasern ist keineswegs spezifisch und an die Verabreichung von Glucocorticoiden gebunden. Sie wird beim Menschen u.a. bei Myasthenia gravis, Kollagenosen und subakuter sklerosierender Panenzephalitis beobachtet (64). "The loss of trophic influence of the lower motor neuron" wird von STERN und MENDELL (47) für die Atrophie verantwortlich gemacht.

HEENE (33) sieht die primäre Schädigung, die an den Muskelfasern durch Steroide verursacht wird - in einer Störung des Glycogenstoffwechsels (60,61), die histo- und biochemisch als Aktivitätsabnahme der Muskelphosphorylase b erfaßbar wird. Die NNR-Hormone sind im Glycogenstoffwechsel in zweifacher Weise Störfaktoren:

1. Die Steroide wirken stimulierend auf die Bildung von Adenosin-3',5'-monophosphat aus ATP mittels eines strukturgebundener Enzyms. Das zyklische AMP wiederum bewirkt die Aktivierung einer spezifischen Kinase, die für die Überführung der nur schwach aktiven Phosphorylase b in die hochaktive Form Phosphorylase a verantwortlich ist. Die Phosphorylase a leitet ihrerseits die Freisetzung von Glucose-1-Phosphat aus dem gespeicherten Glykogen ein (92).

2. Der Kaliumverlust, mit dem bei langfristiger hochdosierter Verabreichung aller Steroide gerechnet werden muß (93), führt biochemisch zu einer vermehrten ATP-Bildung (Kaliumüberschuß wirkt hemmend auf die ATP-Synthese) (41), sodaß der unter 1. beschriebene Vorgang nach dem Massenwirkungsgesetz zudem durch ein Überangebot durch ATP forciert wird.

Der Kaliummangel wird durch die erhöhte Permeabilität der Zellmembranen für Kalium unter Steroidtherapie (33) und die vermehrte Ausscheidung über die Nieren erklärt.

Nach HEENE (33) reagieren die weißen Muskelfasern gegenüber einer Störung des Glykogenstoffwechsels empfindlicher als die roten Fasern.

Daneben spielt sicherlich der Eiweißkatabolismus eine erhebliche Rolle.

II. Wenn eine Typ-IIA-Faseratrophie zu verzeichnen ist, findet man in denselben Präparaten gleichzeitig eine Zunahme der Typ-I-Faserflächen. Dies ist in der Literatur bisher weitgehend unberücksichtigt geblieben. Lediglich D'AGOSTINO (14) macht auf diesen Sachverhalt an der Diaphragmamuskulatur cortisonbehandelter Kaninchen aufmerksam, ohne jedoch

Angaben zu machen, ob die Umkehr allein durch die Atrophie der Typ-II-Fasern verursacht wurde oder durch eine gleichzeitige Vergrößerung von Typ-I-Fasern mitbedingt war. Um eine Erklärung für das Verhalten der Typ-I-Fasern, wie es oben beschrieben wird, geben zu können, bedarf es weiterer Untersuchungen.

Obwohl die Zunahme der myometrischen Werte der Typ-I-Fasern immer einige Prozent über der Abnahme der Mittelwerte der Typ-IIA-Fasern liegt, wie es Tabelle 2 veranschaulicht, tritt dennoch insgesamt gesehen eine Verkleinerung des Muskels ein, da im normalen Muskel die Fläche der Typ-I-Fasern weniger als die Hälfte der Fläche der Typ-II-Fasern ausmacht. Diese Atrophie der Muskulatur unter Steroidapplikation stimmt mit den bisherigen Erfahrungen überein (vgl. Kap. III).

Der Vergleich der Auswirkungen verschieden hoher Dosierungen des gleichen Steroids auf das Verhalten der Muskelfasern führte zu folgenden Ergebnissen:

während bei niedrig gewählten Dosen, die in einer Größenordnung liegen, wie sie Patienten oft längere Zeit verabreicht werden (23) - nämlich 140 mg/70 kg/die Hydrocortison - selbst nach neunmonatiger Verabreichung keine signifikanten Veränderungen auftreten, setzen bei fünffach höheren Dosen deutliche Veränderungen ein - allerdings, abgesehen von Dexamethason, erst nach längerer Applikation. In der Versuchsreihe mit Triamcinolon ist die Umkehr des normalen Größenverhältnisses der Fasern nach 200 Tagen nachweisbar, also 197 Tage später als dies bei der Anwendung desselben Medikaments in hoher Dosierung möglich ist; bei nochmals um das Fünffache höheren Dosen treten starke myopathische Veränderungen mit dem dritten Versuchstag auf. Diese Befunde stehen im Einklang mit denen von WHITE (72) und WALSH (73). FALUDI (23) schließt nicht aus, daß jede Steroidgabe eine Myopathie hervorruft, vorausgesetzt, sie wird lange genug verabreicht.

Die in vorliegender Arbeit beschriebenen quantitativen Wirkungsunterschiede äquivalenter Dosen verschiedener Corticosteroide sind relativ gering.

Unter hohen Dosen tritt, wie erwähnt, bei allen applizierten Steroiden zwischen dem 3. und 7. Tag eine Umkehr des Größenverhältnisses der Typ-I- und Typ-IIA-Fasern ein. Das Ausmaß und Manifestwerden histologischer Veränderungen, die Ausprägung der Verformung der Faserverteilungskurve und die numerische Abnahme der mittleren Typ-IIA-Faserfläche, bzw. die Zunahme der Typ-I-Faserfläche erscheint bei Dexamethason stärker als bei Triamcinolon und am geringsten ausgeprägt bei Hydrocortison.

In den Versuchsreihen mit mittleren Dosen ist ein deutlich unterschiedliches Verhalten zwischen Dexamethason und Hydrocortison in dem Beobachtungszeitraum von 56 Tagen festzustellen. Unter Hydrocortison kommt es während dieser Zeit zu keiner Faserumkehr, unter Dexamethason tritt dagegen - genauso wie unter hoher Dosierung - um den 4. Versuchstag die Faserumkehr ein, die jedoch mit der dritten Versuchswache rückgängig wird. Ein analoges Verhalten ist auch unter Triamcinolon zu beobachten; die Faserumkehr tritt aber erst nach 200 Tagen auf und normalisiert sich nach weiteren 60 Tagen.

Unter niederen Dosen kommt es in keiner Versuchsreihe zu nennenswerten myometrisch faßbaren Veränderungen.

Ob diesen geringen differenten Wirkungen bei der Applikation von halogenierten und nicht halogenierten Steroiden eine Bedeutung zukommt, erscheint fraglich (3). Aufgrund des vorliegenden Versuches kann eine gewisse Unterschiedlichkeit bezüglich der Entwicklung einer Corticosteroidmyopathie nur mit den verwendeten mittleren Dosen nachgewiesen werden, denn die hoch und niedrig dosierte Applikation erbringt in allen Versuchsreihen analoge Befunde unter den verschiedenen Corticosteroiden.

Soweit diese Verhältnisse auf den Menschen übertragbar sind, können sie folgendes andeuten:

die niederen Dosen des vorliegenden Versuches sind in etwa der nicht selten praktizierten Langzeiterhaltungsdosis z.B. bei rheumatischen bzw. immunologischen Erkrankungen oder beim Asthma bronchiale gleichzusetzen. Hier ist mit Wahrscheinlichkeit die Gefahr der Manifestation einer Cortico-

steroidmyopathie minimal und ein unterschiedliches Verhalten halogenierter, bzw. nicht halogener Steroide kaum zu erwarten. Mit den mittleren Dosen des Versuches sind relativ hochdosierte Steroidgaben in der Klinik zu vergleichen, unter denen bei längerer Applikation mit großer Wahrscheinlichkeit eine Myopathie zu erwarten ist. Diese wird sich bei den halogenierten Steroiden früher manifestieren und insgesamt stärkere Ausmaße erreichen als bei Äquivalenzdosen etwa von Hydrocortison.

Als klinisch gesichert kann angesehen werden, daß Corticosteroidmyopathien nach Absetzen der Medikation voll reversibel sind. Eine interessante Feststellung ergibt sich aufgrund der beschriebenen Versuchsergebnisse, bei denen selbst unter Beibehaltung der Steroidapplikation die einmal induzierte Myopathie die Tendenz zur Rückbildung erkennen läßt. Die hohen Dosierungen des Versuches sind als experimentelles Modell interessant, kommen aber klinisch nur selten und dann meist als einmalige Gabe zur Anwendung. Über Tage verabreicht würden solche Dosierungen sowohl halogener als auch nicht halogener Steroide obligat eine Muskelschädigung nach sich ziehen.

Diese Arbeit bestätigt wieder, daß das Zustandekommen einer Steroidmyopathie vorwiegend ein Dosisproblem ist und daß die Art des Corticoids, wenn Äquivalenzdosen angewandt werden, weniger von Bedeutung zu sein scheint.

Die Hauptaussage der Arbeit ist im Nachweis der Morphogenese der Corticosteroidmyopathie in Form einer Typ-IIA-Faseratrophie und einer Typ-I-Faservergrößerung zu sehen. Sie erhellt die klinische Erfahrung, daß sich diese Stoffwechselmyopathie fast ausschließlich in den proximalen Muskelgruppen manifestiert, in denen die Typ-II-Fasern überwiegen.

Die Dosen, die eine experimentell deutlich nachweisbare Myopathie zu induzieren vermögen, sind hoch. Dies entspricht der klinischen Erfahrung, daß Steroidmyopathien - verglichen mit der Häufigkeit des Einsatzes dieser Pharmaka - relativ selten vorkommen. Wesentlich häufiger dürfte es aber im Rahmen der Corticosteroidmedikation zu klinisch larviert verlaufenden und reversiblen Schädigungen der Skelettmuskulatur kommen, die keine wesentliche funktionelle Bedeutung erlangen und infolgedessen der Beobachtung entgehen.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wird einführend eine Literaturübersicht über die sogenannte exogene Corticosteroidmyopathie gegeben.
2. In eigenen experimentellen Untersuchungen wird durch histochemisch-myometrische Untersuchungen die Morphogenese der Corticosteroidmyopathie am Mäusemuskel untersucht.
3. Die histologisch unspezifische, teils vakuoläre degenerative Corticosteroidmyopathie zeichnet sich myometrisch-histochemisch durch eine Umkehr der normalen Fasergrößen in Form einer Atrophie der Typ-IIA-Fasern und einer Vergrößerung der Typ-I-Fasern aus.
4. Diese Veränderung kann mit hohen Dosen drei verschiedener Corticosteroide prompt nach wenigen Versuchstagen (3 bis 4) experimentell induziert werden.

Mit mittleren Dosen ist sie bei Dexamethason ebenfalls nach einigen Tagen (4), bei Triamcinolon erst nach 200 Tagen nachweisbar, bildet sich aber jeweils während des Versuches spontan wieder zurück. Mit Hydrocortison kann sie während einer Versuchsdauer von 56 Tagen nicht beobachtet werden.

Mit niederen Dosen von Corticosteroiden können bei 56 tägiger bzw. mit Triamcinolon sogar 260 tägiger Beobachtung keine myometrisch faßbaren Abweichungen vom Normalen festgestellt werden.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. AFIFI, A. K., BERGMAN, R. A., HARVEY, J. C.:
Steroid myopathy; clinical, histologic and
cytologic observations.
Hopkins Med. J., 123: 158 (1968)
2. AFIFI, A. K., BERGMAN, R. A.:
Steroid myopathy; a study of the evolution
of the muscle lesion in rabbits.
Bull. Johns Hopkins Med. J., 124: 66 (1969)
3. BARBHAIYA, H. C.: Steroids and myopathy.
The Lancet "Letters to the Editor" May 23 (1964)
4. BERGMAN, R. A.: Observations on the morphogenesis of
rat skeletal muscle.
Bull. Hopkins Hosp., 110: 187 (1962)
5. BROOKE, M. H., KAISER, K. K.:
Muscle fiber types: How many and what kind?
Arch. Neurol., 23: 369 (1970)
6. BROOKE, M. H., KAISER, K. K., WILLIAMSON, E.:
The behavior of fiber types in developing
and reinnervated muscle.
Arch. Neurol., 25: 360 (1971)
7. BYERS, R. K., BERGMAN, A. B., JOSEPH, M.C.:
Steroid myopathy. Report of five cases occurring
during treatment of rheumatic fever.
Pediatrics, 29: 26 (1962)
8. COOMES, E. N.: The role of recovery of reversible myo-
pathies and the effects of anabolic agents in
steroid myopathy.
Neurology, 15: 523 (1962)

9. CUSHING, H.: The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations.
Bull. Hopkins Hosp., 50: 137 (1932)
10. D'AGOSTINO, A. N., CHIGA, M.:
Morphologic changes in cardiac and skeletal muscle induced by corticosteroids.
Ann. N. Y. Acad. Science, 138: 73 (1966)
11. D'AGOSTINO, A. N., CHIGA, M.:
Cortisone myopathy in rabbits; a light and electron microscopic study.
Neurology, 16: 257 (1966)
12. D'AGOSTINO, A. N.: An electron microscopic study of cardiac necrosis produced by 9 alpha-fluorocortisol and sodium phosphatate.
Am. J. Path., 45: 633 (1964)
13. DI MAURO, S., ANGELINI, C., CATANI, C.:
Enzymes of the glycogen cycle and glycolysis in various human neuromuscular disorders.
J. Neurol. Neurosur. Psychiat., 30: 411 (1967)
14. DUBOIS, E. L.: Triamcinolone in the treatment of systemic Lupus erythematosus.
J. A. M. A., 26: 1590 (1958)
15. DUVENCI, J., CHODOSH, S., SEGAL, M. S.:
Dexamethasone therapy in bronchial asthma.
Ann. Allerg., 17: 695 (1959)
16. ELLIS, J. T.: Necrosis and regeneration of skeletal muscles in cortisone-treated rabbits.
Am. J. Path., 32: 993 (1956)
17. ELLIS, J. T.: Degeneration and regeneration in the muscles of cortisone-treated rabbits.
Am. J. Phys. Med., 34: 240 (1955)

18. ELLIS, J. T.: Studies on the nature and pathogenesis of muscular degeneration in cortisone-treated rabbits.
N. Y. Path. Soc., The Bull., Page 814 (1956)
19. ENGEL, W. K.: Histochemistry of neuromuscular disease - significance of muscle fiber types: Neuromuscular diseases, pp. 67 - 101. In "Proceedings of the Eighth International Congress of Neurology, Vienna", Vol. 2. Exc. Med. Amsterd. (1965)
20. ENGEL, A. G.: Electron microscopic observations in thyrotoxic and corticosteroid-induced myopathies.
Mayo Clin. Proc., 41: 785 (1966)
21. ENGEL, W. K.: Muscle biopsy.
Clin. Orthop., 39: 80 (1965)
22. ERBSLÖH, F.: Die Bedeutung der Muskelbiopsie bei den sogenannten Kollagenosen.
Verh. Dt. Ges. inn. Med., 65: 371 (1959)
23. FALUDI, G., MILLS, L. C., CHAYES, Z. W.:
Effect of steroids on muscle.
Acta Endocrin., 45: 68 (1964)
24. FALUDI, G., GOTTLIEB, J., MEYERS, J.: Factors influencing the development of steroidinduced myopathies.
Ann. N. Y. Acad. Sci., 138: 61 (1966)
25. FIRSCHEIN, H. E., WESTPHAL, U.:
Distribution of injected cortisol-4-C¹⁴ in normal and shocked rats.
Endocrinology, 60: 347 (1957)
26. FREYBERG, R. H., BERNTSEN, C. A., HELLMAN, L.:
Further experiences with delta 1, 9 alpha Fluoro, 16 alpha hydroxycortisone (Triamcinolone) in treatment of patients with rheumatoid arthritis.
Arthritis and Rheumat. i, 215 (1958)

27. GAUTHIER, G., PADYKULA, H.: Cytological studies of fiber types in skeletal muscle. A comparative study of the mammalian diaphragm.
J. Cell. Biol., 28: 233 (1966)
28. GERMUTH, G.: Anatomic and histologic changes in rabbits with experimental hypersensitivity, treated with Compound E and ACTH.
Proc. Soc. f. Exp. Biology, 76: 177 (1951)
29. GLASER, G. H., STARK, L.: Excitability in experimental myopathy. 1. Measurement of refractory period; quinidine effect; cortisone myopathy.
Neurology, 8: 640 (1958)
30. GOLDBERG, A. L., GOODMAN, H. G.:
Relationship between cortisone and muscle work in determining muscle size.
J. Physiol. (London) 200: 667 (1969)
31. GOLDING, D.N., BEGG, T. B.: Dexamethasone myopathy.
Brit. Med. J., ii: 1129 (1960)
32. GOLDING, D. N., MURRAY, S. M., PEARCE, G. W.:
Corticosteroid myopathy.
Ann. Phys. Med., 6: 171 (1961)
33. GRUENER, R., STERN, L. Z.: Effects of corticosteroids on muscle membrane excitability.
Arch. Neurol. (Chicago), 26: 181 (1972)
34. HAGSTROM, J. W., ROSEMAN, D. M., ELLIS, J. T.:
Debilitating muscular wasting and steroid therapy.
Arch. Neurol., 5: 60 (1961)
35. HARMAN, J. B.: Muscular wasting and corticosteroid therapy.
The Lancet, 1: 887 (1959)

36. HEENE, R.: Bedeutung experimentell-histochemischer Befunde für die Pathogenese von Muskeldystrophien.
Kurze wiss. Mitt. 47. Jg, 7: 389 (1969)
37. HIRSCH v., T., BOELLAARD, J. W.:
Methacrylsäureester als Einbettungsmittel
in der Histologie.
Z. wiss. Mikroskopie, 64: 1 (1959)
38. JERUSALEM, F., FREUND-MÖLBERT, E.:
Elektronenmikroskopische myopathologische
Biopsiebefunde bei Hypercorticismus durch
ein ACTH-aktives Lebercarcinom.
Dt. Z. Nervenheilk., 197: 203 (1970)
39. KAESER, H. E., KOCHER, R.:
Iatrogene Muskelsymptome und Myopathien.
Therap. Umschau, 27: 387 (1970)
40. KAISER, H.: Cortisonderivate in Klinik und Praxis.
Thieme, Stuttgart (1968)
41. KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Thieme, Stuttgart (1970)
42. KENDALL, E. C.: Transactions of tenth meeting of
Josiah Macy, Jr. Foundation.
Page 93, New York 1945
43. KENDALL, P.H., HART, M. F.:
Side effects following triamcinolone.
Brit. Med. J., 1: 682 (1959)
44. KERPPOLA, W.: Inhibition of phosphorylase with cortisone
and its activation with adrenalin in the rabbit.
Endocrinology 51: 192 (1952)
45. LEHOZKY, T.: Triamcinolone myopathy.
The Lancet, 1: 994 (1956)

46. KUSCHINSKY, G., LÜLLMANN, H.:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
Thieme, Stuttgart (1972)
47. LEONARD, S. L.: The effect of hormones on phosphorylase
activity in skeletal muscles.
Endocrinology, 60: 619 (1957)
48. LUKENS, E.: Medical uses of cortisone.
Blakiston, New York - Toronto
49. MACLEAN, K., SCHURN, E.H.:
Reversible amyotrophy complicating treatment
with fludrocortisone.
The Lancet, 4: 701 (1959)
50. MENDELL, J. R., ENGEL, W. K.:
The fine structure of type II muscle fiber
atrophy.
Neurology, 21: 358 (1971)
51. MITTELBACH, F., PONGRATZ, D.:
Untersuchungen zum histochemischen Kalium-
nachweis in der Skelettmuskulatur.
Histochemie, 15: 363 (1968)
52. MITTELBACH, F., PONGRATZ, D.:
Histologische und histochemische Untersuchungen
über den Einfluß von Prednisolonacetat auf den
normalen und denervierten Skelettmuskel der Maus.
Virch. Arch. Path. Anat., 343: 100 (1967)
53. MÜLLER, R., KUGELBERG, E.:
Myopathy in Cushing's syndrome.
J. Neurol. Neurosurg. Psych., 22: 314 (1959)
54. NACHLASS, M. M., SELIGMAN, A. M.:
Cytochemical demonstration of SDH by the use of
a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole.
J. Histochem. Cytochem., 5: 420 (1957)

55. NEUSTADT, D.: Corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis.
J. A. M. A., 170: 1253 (1959)
56. PADYCUA, H. A., HERMAN, E.:
The specificity of the histochemical method for adenosinetriphosphatase.
J. Histochem. Cytochem., 3: 170 (1955)
57. PERKOFF, G. T., SILBER, R., TYLER, F. H., CARTWRIGHT, G.E.:
Studies in disorders of muscle. Part XII:
Myopathy due to the administration of therapeutic amounts of 17-hydroxyl-steroids.
Am. J. Med., 26: 891 (1959)
58. PETER, J.B., VERHAAG, D. A., WORSFOLD, M.:
Studies of steroid myopathy. Examination of the possible effect of triamcinolone on mitochondria and sarcotubular vesicles of rat skeletal muscle.
Biochem. Pharmacol., 19: 1627 (1970)
59. PLEASURE, D. E., WALSH, G. O., ENGEL, W. K.:
Atrophy of skeletal muscle in patients with Cushing's syndrome.
Arch. Neurol., 22: 118 (1970)
60. ROBINSON, C. E., ROBINSON, H. S.:
Triamcinolone in rheumatoid arthritis.
Canad. Med. Ass. J., 80: 245 (1959)
61. SCRIBA, P. C., WERDER V. K.:
Wirkungen und Nebenwirkungen der Glucocorticoide.
Der Internist, 13: 261 (1972)
62. SERRATRICE, G., ROUX, R., AQUARON, R.:
Variations du glycogène et des enzymes glycolytiques au cours des myopathies cortisoniques expérimentales. II. Journées internationales de pathologie neuromusculaire, Marseille, Oct. 1970

63. SIE, H. G., FISHMAN, W. H.:
Glycogene synthetase: Its response to cortisol.
Science, 148: 816 (1964)
64. SMITH, B.: Histological and histochemical changes in
muscles given the corticosteroid triamcinolone.
Neurology (Minneap.), 14: 857 (1964)
65. STERN, L. Z., GRUENER, R., KIRKPATRICK, J., NEMETH, P.:
The fine structure of cortison-induced myopathy.
Exp. Neurol., 36: 530 (1972)
66. TAKEUCHI, T.: Histochemical demonstration of phosphorylase.
J. Histochem. Cytochem., 4: 84 (1956)
67. TAKEUCHI, T., KURIAKI, H.:
Histochemical detection of phosphorylase in
animal tissue.
J. Histochem. Cytochem., 3: 153 (1955)
68. TAUSK, M.: Pharmakologie der Hormone.
Thieme, Stuttgart (1970)
69. TICE, L. W., ENGEL, A. G.:
Effects of glucocorticoids on the fine structure
of red and white muscle.
J. Cell Biology, 27: 106a (1965)
70. TICE, L. W., ENGEL, A. G.:
The effects of glucocorticoids on red and white
muscles in the rat.
Am. J. Pathol., 50: 311 (1967)
71. VIGNOS, P. J.: Experimental corticosteroid myopathy.
II. Journees internationales de pathologie
neuromusculaire, Marseille, Oct. 1970

72. WALSH, J., DE VIVO, L., [unclear] .: Histochemical and ultrastructural changes in rat muscle. Occurrence following adrenal corticotropic hormone, glucocorticoids and starvation. Arch. Neurol. (Chicago), 24: 83 (1971)
73. WALTON, C. H.: Clinical experience with dexamethasone. Canad. Med. Ass. J., 81: 724 (1959)
74. WHITE, A. M., BULLOCK, G. R., CHRISTIAN, R., PETERS, R.: Cellular mechanism in an animal model of steroid myopathy. II. Journees internationales de pathologie neuromusculaire, Marseille, Oct. 1970
75. WILLIAMS, R. S.: Triamcinolone myopathy. The Lancet, 4: 698 (1959)
76. YOUNG, D. A.: Hepatic adenosine triphosphate, glucose p-phosphate and uridine diphosphoglucose levels in fasted, adrenal-ectomized and cortisol treated rats. Arch. Biochem., 114: 309 (1966)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Dr. med.
D. Pongratz für die freundliche Überlas-
sung des Themas und seine stete Hilfsbereit-
schaft bei der Durchführung meiner Arbeit
ganz besonders danken. Herr Dr. Pongratz
hat mir alle benötigten Geräte zur Verfü-
gung gestellt und persönlich alle Mikro-
fotographien angefertigt.

LEBENS LAUF

Am 29. Juni 1948 wurde ich als erstes Kind des Ehepaares Karl-Heinz Heede und Ilse Heede, geborene Sennhenn in Hannoversch-Münden geboren.

Meine Einschulung in die dortige Volksschule erfolgte 1955; 1959 wechselte ich in die Stadtmittelschule in Hann.-Münden über.

Die Versetzung meines Vaters nach Faßberg/Celle bedingte einen erneuten Schulwechsel: von 1959 bis 1966 war ich Schülerin der Christian-Schule in Hermannsburg. Von der Mittelschule zum neusprachlichen und mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium der Christian-Schule trat ich 1963 über und entschied mich Ende der 10. Klasse für den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig.

Aufgrund einer weiteren Versetzung meines Vaters nach Fürstenfeldbruck besuchte ich von 1966 bis 1968 das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Fürstenfeldbruck. An dieser Schule erwarb ich das Zeugnis der Reife.

Im Oktober 1968 immatrikulierte ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, um Medizin zu studieren. Hier bestand ich nach fünf vorklinischen Semestern im April 1971 das Physikum. Die vorliegende Doktorarbeit begann ich im August 1971 und brachte sie im Dezember 1974 zu Abschluß.

Nach 11 Semestern legte ich im Juni 1974 das medizinische Staatsexamen ab.

Im Juli 1972 heiratete ich meinen Studienkollegen Franz Wassermann.

